



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITE DADO AOS VITELOS E
IMPACTO NA SUA SAÚDE E CRESCIMENTO

VERÓNICA MENDES PIRES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima

Doutora Maria Manuela Castilho Monteiro de
Oliveira

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro

CO-ORIENTADOR

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

2018

Lisboa



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITE DADO AOS VITELOS E
IMPACTO NA SUA SAÚDE E CRESCIMENTO

VERÓNICA MENDES PIRES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima

Doutora Maria Manuela Castilho Monteiro de

Oliveira

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro

CO-ORIENTADOR

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

2018

Lisboa

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço ao meu Pai e à minha Mãe, por todo o apoio e sacrifício que sei que tiveram de fazer ao longo destes 6 anos, e que tornou possível a concretização deste objetivo.

À minha irmã, ao meu irmão, aos meus avós, ao meu padrinho e à minha madrinha que desde sempre me apoiou na minha decisão de seguir este percurso.

Ao Professor Ricardo Bexiga, pela enorme paciência, disponibilidade e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho e por todos os conhecimentos transmitidos ao longo da minha aprendizagem.

Ao Dr. Dário Guerreiro, pela paciência, orientação, amizade e conhecimentos que me transmitiu ao longo do estágio.

À Dra. Carla Carneiro pelo grande apoio e simpatia durante o trabalho laboratorial.

Ao Professor Telmo Nunes pela ajuda no tratamento de dados.

Ao Dr. Rui Cepêda pela confiança e prontidão em ajudar, e por ter tornado possível uma experiência incrível, que me leva a agradecer a toda a equipa da NOVADAN (Dinamarca), em especial ao Eng. Hans Erik Nielsen; à equipa da Hejrskov Mælk, especialmente ao Sr. Brian Nielsen, pela incrível experiência que me proporcionaram, e à UNIVET, em especial ao Dr. Lars Dueholm.

Ao Dr. Leandro Pires pela ajuda na recolha das amostras de leite.

Aos meus colegas Açorianos e “pseudo-açorianos” que tornaram os momentos difíceis um bocadinho menos difíceis e os momentos bons, muito bons! Foram melhores do que eu teria pedido.

Ao meu namorado, que desde o primeiro dia estive do meu lado para ouvir as minhas lamentações e festejar comigo as minhas vitórias, tendo sido o meu alicerce nesta caminhada.

Por fim, e com uma enorme saudade, àqueles que me deixaram precocemente durante este percurso e que teriam tido o maior gosto em ver-me concluí-lo. Ao meu avô Mário, meu avô José, e à minha madrinha Angelina.

A todos os outros que não consigo enumerar, mas que fazem parte da minha vida e deste percurso, obrigada!

Resumo

Este trabalho foi desenvolvido em dois momentos, tendo o primeiro o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite oferecido aos vitelos pelos produtores e para tal foram recolhidas 61 amostras de leite dado aos vitelos, em 57 explorações portuguesas. Estas incluíam leite de tanque, leite de desperdício, leite de desperdício acidificado e leite de desperdício pasteurizado, sendo a grande maioria constituída por leite de desperdício. Estas apresentaram contagens de bactérias totais viáveis muito variáveis, sendo que 52,7% apresentaram valores superiores a 1.000.000 ufc/mL.

O segundo momento foi um ensaio de um produto acidificante de leite (Nova Calforce® - Dinamarca), levado a cabo num grupo de 45 vitelos, cuja alimentação consistiu desde o nascimento em leite de desperdício (22 vitelos), ou leite de desperdício acidificado (23 vitelos) com o objetivo de diminuir a contaminação bacteriana. Foi feito o registo do sexo, tipo de parto, número de partos da mãe, peso ao nascimento, afeções desenvolvidas e terapêutica instituída, dias ao desmame, e peso ao desmame. Os dados permitiram o estabelecimento de relações entre o grupo e as afeções desenvolvidas, e o ganho médio diário de peso (GMD). Apenas se verificou significância estatística na comparação entre grupos ($p < 0,05$) para a variável de vitelos que foram acometidos por mais de uma afeção ou necessitaram de repetição de terapêutica, tendo os vitelos Nova Calforce® apresentado um melhor desempenho.

Das relações estabelecidas de forma a encontrar relação com o GMD a que se mostrou mais influente foi a relação entre os grupos de estudo, apesar de valor de $p > 0,05$ ($p = 0,06095$), verificando-se uma média de GMD superior em 71,5 grama diárias nos vitelos Nova Calforce®, em relação aos vitelos controlo.

A falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) mostrou ter influenciado negativamente o desenvolvimento de diarreia e o GMD.

Palavras-chave: leite de desperdício, contaminação bacteriana, acidificação, vitelos, doença, GMD.

Abstract

This work was carried out in two stages, the first aim being to understand the microbiological quality of the milk fed to calves by the farmers. Sixty-on samples of milk fed to calves were collected in 57 Portuguese farms, consisting of bulk tank milk, waste milk, acidified waste milk and pasteurized waste milk. Most of the sample were waste milk, which had highly variable viable total bacterial counts, with 52.7% having values higher than 1,000,000 cfu/mL.

The second stage consisted on a trial with a milk acidifying product (Nova Calforce® - Denmark), carried out with 45 calves, which were fed with waste milk (22 calves) or acidified waste milk (23 calves) in order to reduce bacterial contamination. Several variables were recorded, including sex, type of calving, dam parity, birth weight, occurrence of diseases, duration of therapy, days at weaning, and weight at weaning. The data allowed the establishment of relations between the group and disease occurrence, and the average daily weight gain (ADG). There was only correlation that was statistically significant in the comparison between groups ($p < 0.05$), which was the occurrence of more than one disease episode or the need for a repeated treatment, leading to the observation that calves fed with milk treated with Nova Calforce® performed better.

The comparison of average daily weight gain between the study groups was not significant ($p = 0.06095$), but there was 71.5 grams advantage on the Nova Calforce® calves when compared to control calves.

Failure of transfer of passive immunity had a negative influence in the occurrence of diarrhea and on ADG.

Keywords: waste milk, bacterial contamination, acidification, calves, disease, ADG.

Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo.....	ii
Abstract	iii
Índice Geral.....	iv
Índice de Gráficos	vi
Índice de Tabelas	vi
Lista de Abreviaturas	viii
1. Resumo das atividades realizadas durante o estágio curricular	1
2. Introdução	3
3. Doenças dos vitelos.....	5
3.1. Diarreia neonatal	6
3.1.1. Etiologia infecciosa.....	6
3.2. Doença respiratória.....	7
3.2.1. Etiologia Infecciosa	8
3.3. Fatores de risco.....	9
3.3.1. Diarreia neonatal	10
3.3.2. Doença respiratória	12
3.4. Impacto económico futuro.....	14
4. O leite dado aos vitelos	15
4.1. Colostro	15
4.2. Alimentação líquida até ao desmame	16
4.3. O leite de desperdício	17
4.3.1. Possíveis vantagens de utilização	17
4.4. Impacto da qualidade microbiológica	18
4.4.1. Colostro.....	19
4.4.2. Leite de desperdício	20
4.5. Tratamento do leite de desperdício	22
4.5.1. Inativação bacteriana por calor	22
4.5.2. Inativação bacteriana por UV	27
4.5.3. Inativação bacteriana por acidificação	29
5. Objetivos.....	33
6. Materiais e Métodos.....	34
6.1. Contagem total de bactérias viáveis em leite utilizado na alimentação de vitelos.....	34
6.1.1. Caracterização da amostra e da recolha	34

6.1.2.	Processamento laboratorial	35
6.1.3.	Análise estatística.....	36
6.2.	Ensaio com acidificante mineral Nova Calforce®	36
6.2.1.	Caracterização da exploração.....	36
6.2.2.	Caracterização do vitleiro.....	37
6.2.3.	Manejo dos vitelos	37
6.2.4.	Manejo do material e do leite de desperdício	38
6.2.5.	Caracterização do ensaio com o acidificante mineral Nova Calforce®	39
6.2.6.	Análise estatística.....	41
7.	Resultados	42
7.1.	Contagem total de bactérias viáveis em leite utilizado na alimentação de vitelos.....	42
7.1.2.	Contagens consoante o tipo de leite	43
7.2.	Ensaio com acidificante mineral Nova Calforce®	44
7.2.1.	Morbilidade e terapêutica.....	46
7.2.1.1.	Morbilidade e terapêutica nos diferentes grupos de estudo	47
7.2.1.2.	Morbilidade e terapêutica de acordo com o número de partos da mãe e o tipo de parto	48
7.2.1.3.	Morbilidade de acordo com o sexo do vitelo.....	49
7.2.2.	Ganhos médios diários de peso	49
7.2.2.1.	GMD de acordo com os grupos em estudo.....	50
7.2.2.2.	GMD de acordo com o número de partos da mãe e o tipo de parto	50
7.2.2.3.	GMD de acordo com o sexo	51
7.2.2.4.	GMD de acordo com as doenças sofridas.....	51
7.2.2.5.	GMD dos vitelos doentes e não doentes, de acordo com o grupo de estudo.....	53
7.2.3.	Transferência da imunidade passiva	54
7.2.3.1.	Morbilidade de acordo com a transferência de imunidade passiva	54
7.2.3.2.	GMD de acordo com a transferência de imunidade passiva.....	54
8.	Discussão	56
8.1.	Qualidade microbiológica de leite utilizado na alimentação de vitelos	56
8.1.1.	Limitações e sugestões.....	57
8.2.	Ensaio com acidificante mineral Nova Calforce®	58
8.2.1.	Aceitação do leite acidificado pelos vitelos	58
8.2.2.	Incidência de doenças	58
8.2.3.	Terapêutica instituída.....	61
8.2.4.	Ganho médio diário de peso.....	62

8.2.5. Limitações e sugestões.....	63
9. Conclusão.....	65
10. Bibliografia	66

Índice de Figuras

Figura 1: Recipientes de colheita das amostras identificados por numeração correspondente ao nome da exploração, data de recolha e tipo de leite (fotografia original).....	34
Figura 2: Amostras de leite e respetivo soro (900 µl) para diluição (10^{-1} até 10^{-4}) (fotografia original).....	35
Figura 3: Diluição das amostras (10^{-1} até 10^{-4}) (fotografia original).	35
Figura 4: Placas com multiplicação bacteriana e contagens assinaladas (fotografia original).	35
Figura 5: Diluições das amostras e respetivas placas de sementeira (fotografia original).	35
Figura 6: Vacas em regime de pastoreio (fotografia original).....	36
Figura 7: Vacas em regime de estabulação (fotografia original).....	36
Figura 8: Vitelos em boxes individuais suspensas, em ferro galvanizado (fotografia original).....	37
Figura 10: Bilha de recolha do leite de desperdício (fotografia original).....	38
Figura 9: Percurso desde a ordenha (círculo preto) até ao vitleiro (círculo vermelho) (imagem: Google Earth).....	38
Figura 11: Balança de pesagem ao nascimento em processo de pesagem (fotografia original).....	40
Figura 12: Vitelo em processo de pesagem, ao desmame (fotografia original).	40
Figura 13: Mostrador da balança utilizada para pesagem após desmame (fotografia original).	40
Figura 14: Sementeiras da amostra original e das suas diluições (10^{-1} a 10^{-4}) (da esquerda para a direita), com reduzida multiplicação bacteriana (fotografia original).	42
Figura 15: Sementeiras da amostra original e das suas diluições (10^{-1} a 10^{-4}) (da esquerda para a direita), com elevada multiplicação bacteriana (fotografia original).	42

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Distribuição das contagens totais de bactérias viáveis.	43
Gráfico 2: Distribuição e média das CBT viáveis (log ufc/mL) consoante os diferentes tipos de leite (A – LDA; D – LD; P – LDP; T – LT).	43
Gráfico 3: Distribuição dos GMD (Kg/dia).	49
Gráfico 4: Distribuição comparativa do GMD (Kg/dia) entre os dois grupos de estudo.	50
Gráfico 5: Distribuição dos GMD (Kg/dia) de acordo com o sucesso da transferência de imunidade passiva ($p = 0,0011$).	55

Índice de Tabelas

Tabela 1: Contagens bacterianas ideais para colostro fornecido a vitelos.	19
Tabela 2: Contagens em diferentes tipos de leite usado na alimentação de vitelos, e as contagens que seriam ideais (adaptado de McGuirk, 2003).	20
Tabela 3: Estimativa do tempo de recuperação do investimento de um pasteurizador (HTST), por comparação com o custo médio do leite de substituição, de acordo com o número de vitelos/dia nua exploração e assumindo 6 L de ingestão diária (Adaptada de Stone, 2014).	27

Tabela 4: Descrição dos valores de pH em que há multiplicação de várias bactérias com interesse nas explorações leiteiras, do pH de multiplicação ótimo, e do pH de inativação, em condições de laboratório.	30
Tabela 5: Média (log ufc/mL) de CBT viáveis de acordo com o tipo de leite.	44
Tabela 6: Número e percentagem correspondente de amostras, de cada tipo de leite, que apresentam contagens < 50.000 ufc/mL.	44
Tabela 7: Distribuição geral do número de vitelos, por sexo, número de partos da mãe e tipo de parto.	45
Tabela 8: Variação dos pesos ao nascimento (Kg), pesos ao desmame (Kg) e idade ao desmame (dias).....	45
Tabela 9: Valores mínimos, médios e máximos, do peso ao nascimento (Kg), peso ao desmame (Kg) e idade ao desmame (dias) de acordo com os grupos de estudo (N – vitelos Nova Calforce®; C – vitelos controlo).	46
Tabela 10: Valores mínimos, médios e máximos, do peso ao nascimento (Kg), peso ao desmame (Kg) e idade ao desmame (dias), de acordo com o número de partos da mãe (M – múltipara; P – primípara).....	46
Tabela 11: Morbilidade e terapêutica instituída de acordo com os grupos de estudo.....	47
Tabela 12: Morbilidade e terapêutica instituída de acordo com o número de partos das mães.....	48
Tabela 13: Morbilidade e terapêutica instituída de acordo com o tipo de parto.	48
Tabela 14: Morbilidade de acordo com o sexo do vitelo.....	49
Tabela 15: Distribuição dos GMD (Kg/dia) nos dois grupos de estudo.	50
Tabela 16: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com o número de partos da mãe (M – múltipara; P – primípara).	51
Tabela 17: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com o tipo de parto (A – assistido; N – normal).	51
Tabela 18: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com o sexo do vitelo (F – feminino; M – masculino).	51
Tabela 19: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de alguma doença (S – vitelo acometido por alguma doença; N – vitelo não acometido por sinais clínicos detetáveis pela tratadora).	52
Tabela 20: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de diarreia (S – vitelos afetados por diarreia; N – vitelos não afetados por diarreia).	52
Tabela 21: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de doença respiratória (S – vitelos afetados por pneumonia; N – vitelos não afetados por pneumonia).	52
Tabela 22: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de outras doenças (S – vitelos afetados por outras doenças; N – vitelos não afetados por outras doenças).....	53
Tabela 23: Distribuição do GMD (Kg/dia) dos vitelos que desenvolveram doença, de acordo com o grupo de estudo (N - Nova Calforce®; C - controlo).	53
Tabela 24: Distribuição do GMD (Kg/dia) dos vitelos que não desenvolveram sinais clínicos detetáveis pela tratadora, de acordo com o grupo de estudo (N - Nova Calforce®; C - controlo)....	53
Tabela 25: Morbilidade de acordo com o sucesso da transferência de imunidade passiva.	54
Tabela 26: Distribuição dos GMD (Kg/dia) de acordo com a concentração de PT sérica.	55

Lista de Abreviaturas

BAD – Adenovírus bovino

BCoV - Coronavírus

BRSV – Vírus respiratório sincicial bovino

BVD – Diarreia viral bovina

CCS – Contagem de células somáticas

CBT – Contagem de bactérias totais

E. coli – *Escherichia coli*

EUA – Estados Unidos da América

FDA – “Food and Drug Administration”

GMD – Ganho médio diário de peso

HTST – “High Temperature Short Time”

IBR – Herpes vírus bovino tipo I

IgA – Imunoglobulina A

IGF-1 – “Insulin Growth Factor 1”

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

LD – Leite de desperdício

LDA – Leite de desperdício acidificado

LDP – Leite de desperdício pasteurizado

LT – Leite de tanque

LTLT – “Low Temperature Long Time”

MAP – *Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis*

MS – Matéria seca

NAHMS – “National Health Monitoring System”

NRC – “Nutrient Requirements of Dairy Cattle”

PIV3 – Vírus parainfluenza 3

PT – Proteínas Totais

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

US – “United States”

UV – Luz ultravioleta

1. Resumo das atividades realizadas durante o estágio curricular

O estágio curricular decorreu entre 4 de setembro de 2017 e 4 de janeiro de 2018, sob a orientação do Dr. Dário Guerreiro. O estágio consistiu em acompanhar este médico veterinário nas consultas a várias explorações, predominantemente de bovinos, tanto leiteiros como aleitantes, visando as áreas da clínica médica e cirúrgica, manejo reprodutivo, sanidade animal, qualidade de leite e aconselhamento/acompanhamento de produção e gestão de explorações.

Nas consultas, foram feitos exames clínicos, instituição das terapêuticas mais adequadas a cada situação, sendo feita cirurgia nas situações que assim o exigiam, e necropsias. As cirurgias incluíram: piloropexia em deslocamento de abomaso à esquerda, cesariana em bovinos e caprinos, amputação de cauda e descorna. Os sistemas mais comumente afetados foram o digestivo, o respiratório e o reprodutivo. A nível do aparelho digestivo surgiram casos com muita frequência, como a diarreia neonatal, maioritariamente por *Cryptosporidium parvum*; casos de hipomotilidade ruminal, timpanismo ruminal e parasitoses. A nível respiratório, sobretudo animais afetados por pneumonia. Relativamente ao aparelho reprodutor foram frequentemente acompanhados: partos distócicos, retenção placentária, prolapso uterino, prolapso vaginal, endometrite, metrite, e edema testicular.

O manejo reprodutivo consistiu no exame por palpação e ecografia transretal para diagnóstico de gestação precoce; confirmação de gestação; confirmação de diagnóstico pré-secagem; diagnóstico de afeções reprodutivas e instituição de terapêutica; diagnóstico de anestro e instituição da terapêutica ou protocolo mais apropriado. Nos machos foram feitos exames andrológicos de forma a inferir se estes estavam aptos para reprodução. Era feito também aconselhamento relativamente à gestão do efetivo, tendo em conta os resultados reprodutivos.

A sanidade animal englobou: testes de tuberculina, recolhas de sangue para diagnóstico de brucelose e leucose em bovinos, e vacinações e desparasitações de efetivos bovinos, ovinos, caprinos, equinos e suínos.

A área da qualidade de leite consistiu sobretudo em diagnóstico, aconselhamento de estratégias de prevenção e instituição de terapêuticas de mamites.

Além dos casos em bovinos, houve ainda algumas consultas em pequenos ruminantes (cabras e ovelhas), sobretudo na área da sanidade animal e assistência a partos. Em menor número foram as consultas de suínos e equinos.

No decorrer do estágio, foram ainda recolhidas amostras de leite utilizado na alimentação de vitelos, nalgumas das explorações visitadas, como parte integrante do trabalho necessário à elaboração da presente dissertação.

No restante mês de janeiro, foi também feita recolha de leites utilizados na alimentação de vitelos em várias explorações da ilha Terceira. Todos os leites recolhidos foram posteriormente processados, durante o mês de fevereiro, no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, onde foi feita a contagem das ufc/mL de cada um deles.

No mês de março acompanhei durante 3 semanas a exploração leiteira dinamarquesa Hejrskov Mælk, e durante 1 semana, o Dr. Lars Dueholm, que integra a equipa de médicos veterinários UNIVET. A exploração leiteira detinha um efetivo produtor de aproximadamente 1.600 vacas. O acompanhamento do efetivo produtor era feito sobretudo no controlo diário dos animais até 3 semanas pós-parto, verificando os níveis de ruminação e temperatura retal, e em caso de sinais anormais, diagnóstico e instituição de terapêuticas, sendo as doenças mais frequentes, a cetose, mamite, metrite e deslocamento de abomaso à esquerda. Do restante efetivo eram seguidas as produções a cada ordenha e níveis de ruminação dos animais, procedendo ao exame clínico em caso de valores anormais. Foram seguidos também de perto os vitelos, tendo em especial atenção a rápida administração de colostro após o nascimento, e sinais clínicos até ao desmame.

Com o Dr. Lars Dueholm, foram feitas visitas de manejo reprodutivo de várias explorações dinamarquesas, em que se procediam às mesmas ações já referidas para o efeito. Nas consultas, foram feitos exames clínicos, diagnóstico e instituição de terapêutica, e cirurgia em casos de deslocamento de abomaso à esquerda, através de técnica fechada, por fixação com sutura de Toggle.

Na Dinamarca acompanhei também a equipa da Novadan, maioritariamente sob a orientação do Eng. Hans Erik Nielsen, tendo conhecido a empresa e o local de fabrico dos seus produtos, nomeadamente pré e pós-dipping, detergentes de desinfeção de sistemas de ordenha, e o produto utilizado em ensaio na presente dissertação, Nova Calforce®, um acidificante mineral com vista à diminuição da contaminação bacteriana em leite utilizado na alimentação de vitelos.

2. Introdução

Criar novilhas de reposição requer um grande investimento a nível de alimentação, tempo e instalações, que representa cerca de 25% de todos os custos de produção da exploração (Akins, 2016). Os criadores de novilhas de reposição enfrentam o desafio de criar vitelas saudáveis ao menor custo possível, com vista ao maior lucro final (McGuirk, 2008).

O impacto económico das doenças que acometem as futuras novilhas de substituição leiteira é de extrema importância. O custo de criar uma novilha é muito elevado, situando-se entre \$1,200 (1.034,15€) e \$1,600 (1.378,86€)¹ (Karzes, 2005; citado por McGuirk, 2008), mas o custo de compra de uma novilha é ainda maior. Tendo uma exploração o objetivo de manter ou expandir a sua dimensão, o manejo das doenças das futuras novilhas de reposição deve ser um objeto tanto para os produtores como para os veterinários (McGuirk, 2008), sendo estritamente necessário que seja assegurado um bom manejo, providenciada uma alimentação equilibrada, e que haja ausência de doenças nas vitelas, de modo a que estas atinjam o peso ideal ao desmame e na puberdade (Magnier, 2014). Atualmente, a morbilidade e mortalidade dos vitelos são pontos crescentes de preocupação uma vez que se refletem na produtividade, saúde, reprodução e economia futura das explorações leiteiras (Mee, 2008).

De forma a melhorar a saúde dos vitelos e a sua performance, é fundamental entender os fatores que estão associados à morbilidade, mortalidade e taxa de crescimento (Windeyer *et al.*, 2014). As doenças mais importantes nos vitelos leiteiros são as diarreias e as infeções respiratórias, sendo estas as principais causas de morte (Virtala *et al.*, 1996; Svensson *et al.*, 2006; Windeyer *et al.*, 2014). Torsein *et al.*, (2011) demonstrou que as taxas de mortalidade variam muito de exploração para exploração, sendo que no seu estudo, explorações com baixas taxas de mortalidade apresentaram valores de 1% até aos 90 dias, e explorações com altas taxas de mortalidade revelaram valores de 9% de mortalidade até aos 90 dias.

Tudo se resume ao manejo dos vitelos. Vitelos criados num ambiente sub-ótimo e/ou com um manejo sub-ótimo, além de conduzir a um grave problema de bem-estar animal, resulta num impacto económico direto, uma vez que leva ao aumento da taxa de mortalidade, à diminuição da taxa de crescimento (Lundborg *et al.*, 2005), e influencia negativamente a produtividade futura das vitelas enquanto novilhas (Windeyer *et al.*, 2014).

Segundo Akins (2016), o objetivo de crescimento dos vitelos, é que estes apresentem o dobro do seu peso ao nascimento, pela altura do desmame. De forma a alcançar esse objetivo, vitelos desmamados às 6 semanas, teriam de ganhar 1 Kg/dia, e vitelos desmamados às 8 semanas, teriam de ganhar 0,75

¹ 1\$ = 0,86179€ a 19 de junho de 2018

Kg/dia. A facilidade em alcançar tais objetivos depende do programa de alimentação e respetiva qualidade nutricional, a que o vitelo está sujeito.

Os vitelos podem ser criados de acordo com diferentes programas de manejo. Há um esforço a nível dos investigadores para compreender qual ou quais são os métodos de alimentação mais económicos e que melhor promovem o crescimento (Yanar *et al.*, 2006). Tradicionalmente era aconselhada a ingestão de aproximadamente 8 a 10% do peso do vitelo em alimentação líquida, mas num programa intensivo essa percentagem pode ir até 16 a 20% do peso corporal. Vitelos alimentados convencionalmente iniciam uma maior ingestão de concentrado mais precocemente, mas os níveis de energia e proteína ingeridas são sempre inferiores a vitelos em programas intensivos, sendo esperados ganhos médios diários de peso de 0,5 a 0,6 Kg e 0,6 a 0,8 Kg, respetivamente (Akins, 2016). O leite inteiro é, de uma forma geral, considerado o melhor alimento para os vitelos, mas o custo de utilização do leite destinado ao consumo humano para a alimentação de vitelos, é muitas vezes economicamente insustentável (Moore *et al.*, 2009).

Em 2002 a “National Health Monitoring System (NAHMS)” documentou que nos EUA (Estados Unidos da América), 87% das explorações leiteiras alimentavam os vitelos com leite de desperdício (citado por Stabel *et al.*, 2004). O leite de desperdício tem sido utilizado como alimento para vitelos desde há muitos anos, mas devido à sua contaminação bacteriana e às doenças que daí poderão resultar, essa prática tem sido desencorajada (Elizondo-Salazar *et al.*, 2010). Este leite é considerado um subproduto importante da indústria de laticínios e representa 2 a 4% de todo o leite produzido (Deng *et al.*, 2017), sendo considerado uma opção de alimentação económica para explorações que produzam leite de desperdício suficiente para alimentar os vitelos (Akins, 2016). Contudo, a alimentação de vitelos com este leite não tratado pode representar uma fonte de potenciais agentes patogénicos, e a sua ingestão irá expor os vitelos, desde o nascimento, a doenças infecciosas. Daí que sejam propostos vários métodos de processamento do leite para reduzir a sua contaminação e consequentemente os problemas que daí poderão advir (Deng *et al.*, 2017).

À semelhança de estudos existentes em crianças, onde se demonstrou uma associação entre a contaminação bacteriana da comida e os níveis de crescimento após desmame (Martorell *et al.*, 1975; Condon- Paoloni *et al.*, 1977; Coates, 1980; Bairagi *et al.*, 1987; Cebu Study Team, 1991; Cebu Study Team, 1992; Walker *et al.*, 1992; Adair *et al.*, 1993; citado por Jamaluddin *et al.*, 1996a), também estudos semelhantes feitos em animais indicam que aqueles alimentados com dietas com baixas contagens bacterianas apresentam menor incidência de desordens gastrointestinais e maiores índices de crescimento, quando comparados com animais que receberam alimentações com grande contaminação bacteriana (Coates, 1980; Speck, 1983; Black *et al.*, 1984b; citado por Jamaluddin *et al.*, 1996a).

3. Doenças dos vitelos

É essencial compreender e identificar os fatores associados à morbilidade, à mortalidade, e à taxa de crescimento dos vitelos, pois só assim é possível garantir a saúde e um bom desempenho do vitelo, e do animal adulto. A mortalidade aumenta em vitelos tratados para doença respiratória, ou outras doenças, e o seu peso corporal é influenciado pela falha na transferência da imunidade passiva, pelo tratamento de diarreia neonatal ou outras doenças, e pelo mês de nascimento (Windeyer *et al.*, 2014). Lundborg *et al.* (2005) observou vitelos dos 0 aos 90 dias de idade e registou uma incidência de doenças média na ordem dos 21,6%, sendo que a incidência entre explorações variou entre 0 e 57,6%. Relativamente à mortalidade, Seppä-Lassila *et al.* (2016) relatou $5,2 \pm 2,3\%$, em vitelos com idade inferior a 7 dias de idade, e $5,7 \pm 6,2\%$ em vitelos com idades compreendidas entre 6 e 180 dias.

A diarreia e a doença respiratória são as doenças mais problemáticas nos vitelos, sendo a enterite e a pneumonia as maiores causas de morte (Virtala *et al.*, 1996). Ainda que com menor impacto, assumem alguma representatividade, septicémia, artrite, onfaloflebite, hérnia umbilical, dermatofitose e parasitismo (Virtala *et al.*, 1996; Svensson *et al.*, 2003; McGuirk, 2008). Virtala, *et al.* (1996) verificou uma incidência de 25% de pneumonia, 29% de diarreia e 15% de infeções umbilicais em vitelas até aos 3 meses de vida. Sivula *et al.* (1996) constatou 7,6% de mortalidade em vitelos, sendo que 43,8% dessas mortes resultaram de diarreia neonatal, e 29,7% de doença respiratória. Medrano-Galarza *et al.* (2017) observou 1.488 vitelos lactentes e constatou que 23% destes desenvolveram diarreia neonatal e 17% doença respiratória.

Virtala *et al.* (1996) realizou exame *post-mortem* em vitelos que morreram até aos 90 dias, em 18 explorações do estado de Nova Iorque nos EUA, e concluiu que 43% destes morreram devido a diarreia e 24% devido a pneumonia. No estudo de Svensson *et al.* (2006), em que 236 carcaças, de animais com idades compreendidas entre 1 dia e a idade ao primeiro parto, foram submetidas a exame *post-mortem*, vitelos que morreram com idade inferior a 31 dias revelaram ter a enterite como principal causa de morte.

Os custos económicos provenientes das doenças dos vitelos, podem representar 4% do total de custos que uma vaca gera ao longo de toda a sua vida, sendo que 86% desse custo é devido a diarreias e pneumonias desenvolvidas até ao desmame (Sischo *et al.*, 1990). Vitelos atingidos tanto por diarreia, como doença respiratória, ou infeções umbilicais, apresentam menores GMD (Virtala *et al.*, 1996; Donovan *et al.*, 1998; Svensson *et al.*, 2006).

3.1. Diarreia neonatal

É chamada diarreia neonatal, à diarreia que surge no primeiro mês de vida, a qual se traduz num problema de saúde e bem-estar dos vitelos nas explorações leiteiras em todo o mundo (Bazeley, 2003). Esta afeção representa a causa mais comum de morte durante o primeiro mês de vida (Virtala *et al.*, 1996; Azizzadeh, *et al.*, 2012), e o risco de infeção é maior até às três semanas de vida (Sivula *et al.*, 1996). Um estudo holandês relatou uma incidência de 24% de diarreia em vitelos com idade compreendida entre 1 e 21 dias, havendo um pico às 2 semanas (Perez *et al.*, 1990; citado por Bartels *et al.*, 2010). Valores semelhantes, de 19,1% e 21,2%, foram reportados por Bartels *et al.* (2010) e Windeyer *et al.* (2014), respetivamente.

Trata-se de uma afeção complexa e multifatorial com vários fatores infecciosos e não infecciosos (Bazeley, 2003; Klein-Jöbstl *et al.*, 2014), sendo causada por interações entre agentes patogénicos e fatores ambientais (Al Mawly *et al.*, 2015). As fezes líquidas podem resultar de vários processos, entre os quais: excesso de secreção de água para o lúmen (diarreia hipersecretora) por ação de toxinas, eletrólitos ou outras substâncias de elevado poder osmótico (ex: sacarose e lactose); redução da capacidade absorptiva de fluídos, devido a lesão ou morte dos enterócitos; inflamação da parede intestinal; ou aumento do peristaltismo por irritação do intestino (Stilwell, 2013).

A diarreia neonatal é um dos problemas mais importantes na criação de vitelos nas explorações leiteiras, quer a nível económico, como de bem-estar dos animais (Windeyer *et al.*, 2014). Além do custo de tratamento da doença em causa, podem daí resultar muitos outros custos, como a possível mortalidade do vitelo, o baixo GMD, o aumento da idade ao primeiro parto, assim como a dificuldade em parir (Sivula *et al.*, 1996). Gunn e Stott (1997) estimaram o custo médio acrescido por cada vitelo em risco, numa exploração com surtos de enterite, contabilizando: a mortalidade, a desvalorização do vitelo, as despesas com o trabalho extra, o possível tratamento veterinário, e a alimentação extra para compensar o atraso de crescimento, chegando ao valor aproximado de £33 (37,68€)². O mesmo custo foi estimado por cada vitelo ao pré-desmame em risco de doença gastrointestinal, havendo um gasto de \$33,46 (28,84€)³ (Kaneene & Hurd, 1990; citado por Windeyer *et al.*, 2014).

3.1.1. Etiologia infecciosa

Segundo várias fontes, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., rotavírus, coronavírus e o protozoário *Cryptosporidium parvum*, são os microrganismos mais comumente associados ao desenvolvimento de diarreia neonatal (Gulliksen *et al.*, 2009a; Bartels *et al.*, 2010; Stilwell, 2013).

² 1£ = 1,14198€ a 19 de junho de 2018

³ 1\$ = 0,86179€ a 19 de junho de 2018

A gravidade da diarreia aumenta em situações de co-infecção, ou seja, em infecções por dois ou mais agentes, em que os sinais clínicos são mais severos (Bazeley, 2003; Stilwell, 2013; Magnier, 2014; Al Mawly *et al.*, 2015). Torsein *et al.* (2011) isolou uma maior quantidade e variedade de agentes patogénicos, em explorações cuja taxa de mortalidade em vitelos até aos 90 dias era mais elevada.

Num estudo de Al Mawly *et al.* (2015), a diarreia de vitelos com idades entre 1 e 5 dias, foi associada apenas à presença de *E. coli*. Enquanto este agente é responsável por causar diarreias apenas na primeira semana de vida, rotavírus, coronavírus, *Cryptosporidium parvum* e *Salmonella* spp., afetam vitelos mais velhos (Bazeley, 2003; Gulliksen *et al.*, 2009a). No mesmo estudo foi verificado que diarreias de vitelos com idade entre os 9 e os 21 dias, apresentavam sobretudo como causa *Cryptosporidium parvum* e rotavírus, que se mostraram os agentes mais comuns, estando presentes em 50% e 70%, das explorações avaliadas, respetivamente. Nenhuma das diarreias foi associada a coronavírus nem a *Salmonella*. Também Magnier (2014) considera que os agentes mais comuns são *Cryptosporidium* spp. e rotavírus, uma vez que, no seu estudo, foram isolados *post-mortem* em 23% e 18% dos vitelos, respetivamente.

Bartels *et al.* (2010) isolou rotavírus em 31% dos vitelos com fezes moles, com uma semana de idade, e *C. parvum*, em 66% dos vitelos com fezes moles, com 2 semanas de idade. No caso de coronavírus, apesar deste ser considerado patogénico, vários estudos demonstram não haver relação entre a presença do vírus e o aparecimento de diarreia (Bartels *et al.*, 2010).

A diarreia é a segunda maior causa de recurso a tratamento antibiótico em vitelos (Ortman & Svensson, 2004; citado por Torsein *et al.*, 2011). Apesar desta constatação, no estudo de Torsein *et al.* (2011), em que 287 vitelos foram testados, apenas um deles foi positivo para *E. coli*, ou seja, apenas um foi positivo para um agente cujo tratamento antibiótico poderia ser eficaz. Nos restantes casos os agentes foram *Cryptosporidium* spp. e rotavírus, o que indica que de uma maneira geral, a necessidade de utilização de antibióticos é limitada.

3.2. Doença respiratória

A doença respiratória é atualmente apontada como o principal problema de saúde em vitelos e aquele que maiores custos económicos acarreta em todo o mundo (Sivula *et al.*, 1996; Norström *et al.*, 2000; Svensson *et al.*, 2006; Autio *et al.*, 2007). O estudo de Svensson *et al.* (2006) demonstrou que a pneumonia é a maior causa de mortalidade em vitelos com idades compreendidas entre 1 e 6 meses. Também no estudo de Torsein *et al.* (2011), explorações com maior proporção de vitelos com aumento, moderado a severo, dos sons respiratórios à auscultação, apresentavam maiores taxas de mortalidade. Foi estimado por Baker (1984), que 30% dos vitelos de leite do estado de Minnesota (EUA) eram afetados por doença respiratória (citado por Sivula *et al.*, 1996).

No estudo de Virtala *et al.* (1996), a doença respiratória revelou ser a afeção que exercia maior efeito negativo no crescimento dos vitelos, o que se verificava não só devido à ocorrência da mesma, mas também, e sobretudo, devido à sua duração, o que indica que a cronicidade da doença é o que mais influencia negativamente o crescimento.

A maior incidência de doença respiratória dá-se entre as 5 e as 7 semanas de vida (Virtala *et al.*, 1996), tendo início a partir das 2 semanas (Constable *et al.*, 2017). Num estudo levado a cabo por Lago *et al.* (2006), a prevalência da doença respiratória aumentou a partir da segunda semana de vida, e atingiu o pico na sétima semana de vida, não tendo sido identificado nenhum vitelo com doença respiratória na primeira semana de vida.

Foram diagnosticadas infeções do trato respiratório em 29% dos vitelos mortos, com idade entre 1 e 3 meses, na República da Irlanda; e 42% na Irlanda do Norte (Morrison, *et al.*, 2013). Num estudo com 225 vitelos, pertencentes a 13 explorações diferentes, Lago *et al.* (2006), apurou uma prevalência média de 14% de doença respiratória.

A perda económica decorrente da doença respiratória advém de perdas por morte, custos de tratamento, e redução da vida produtiva da vaca adulta (Sivula *et al.*, 1996). Além da mortalidade, a pneumonia está associada a uma redução do GMD de 66g, durante o primeiro mês de vida (Anon, 2012; citado por Magnier, 2014), o que leva a atrasos de crescimento, que se traduzem num aumento da idade ao primeiro parto, e numa maior probabilidade de estes animais serem refugados precocemente (Sivula *et al.*, 1996).

Kaneene e Hurd (1990) estimaram um custo anual acrescido de \$14,71 (12,68€)⁴, por cada vitelo pré-desmamado em risco de pneumonia (citado por Windeyer *et al.*, 2014). Também Gunn e Stott (1997), estimaram o custo acrescido de um vitelo em risco de pneumonia, contabilizando: a mortalidade, a desvalorização do vitelo, as despesas com o trabalho extra, o possível tratamento veterinário, e a alimentação extra para compensar o atraso de crescimento, chegando ao valor aproximado de £21 (23,98€)⁵.

3.2.1. Etiologia Infeciosa

Os vírus mais comumente associados à doença respiratória em vitelos são: vírus respiratório sincicial bovino (BRSV), vírus parainfluenza 3 (PIV3), coronavírus bovino (BCoV), diarreia viral bovina (BVD), herpes vírus bovino tipo 1 (IBR) e adenovírus bovino (BAD) (Autio *et al.*, 2007; Constable *et al.*, 2017). Os vírus respiratórios são eficazmente disseminados por aerossol e por contacto direto

⁴ 1\$ = 0,86179€ a 19 de junho de 2018

⁵ 1\$ = 0,86179€ a 19 de junho de 2018

entre animais, e agem normalmente em combinação com outros agentes infecciosos, mais comumente bactérias, no desenvolvimento da doença respiratória (Gulliksen *et al.*, 2009b).

As bactérias mais frequentemente associadas à doença respiratória são: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis*. No entanto, todas estas bactérias podem ser isoladas das fossas nasais de bovinos saudáveis (Stilwell, 2013). Em exame *post-mortem* a vitelos, cuja morte resultou de pneumonia, Sivula *et al.* (1996) isolou *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mannheimia haemolytica*. Mais recentemente, Svensson *et al.* (2006) isolou os mesmos agentes, isolando também *Escherichia coli* e *Trueperella pyogenes*. Também *Mycoplasma bovis* é frequentemente isolado, combinado com outros agentes, a partir de pulmões de vitelos com pneumonia (Booker *et al.*, 2008; citado por Gulliksen *et al.*, 2009b). Além de responsáveis por pneumonias, *Mycoplasma bovis* é também responsável por outras doenças em vitelos, como artrite e otite (Maunsell & Donovan, 2009; citado por Parker *et al.*, 2016).

Todas as bactérias envolvidas na doença respiratória podem estar presentes como bactérias comensais em vitelos saudáveis, sendo que o quadro clínico se desenvolve em situações de infecção secundária de um ou mais agentes (Gulliksen *et al.*, 2009b). Lago *et al.* (2006) constatou que quanto maior a contaminação bacteriana do local onde está alojado o vitelo, maior a prevalência de vitelos com doença respiratória.

Gulliksen *et al.* (2009b) demonstrou que vitelos de explorações com animais seropositivos para BCoV, tinham um maior risco de desenvolver doença respiratória, do que vitelos de explorações em que não eram detetados anticorpos contra esse agente. No mesmo estudo, foi verificado que a prevalência de vitelos seropositivos para PI 3 não influenciou o risco de desenvolvimento de doença respiratória quando outras variações de alojamento e manejo estavam envolvidas.

3.3. Fatores de risco

Sivula *et al.* (1996) demonstrou, relativamente à mortalidade em vitelos, fatores de risco a nível da exploração e fatores de risco individuais. No primeiro são incluídos: a dimensão da exploração, o tipo de alojamento dos vitelos, a atenção que os tratadores dão aos vitelos, e a forma como a imunidade passiva é assegurada (manejo do colostro). Como fatores de risco individuais refere: distocia, genética, condições do local onde ocorreu o parto, e tratamentos instituídos. Gulliksen *et al.* (2009a) acrescenta ainda a existência de doenças concomitantes, a assistência ao parto e o tratamento perinatal, assim como a alimentação e fatores ambientais. Também McGuirk (2003) refere a possibilidade de ocorrer contaminação fecal-oral, e os aerossóis contaminados, para além de tratamentos e/ou medicamentos usados inadequadamente.

Svensson *et al.* (2006) demonstrou que vitelos pertencentes a explorações de grande dimensão apresentaram maiores taxas de mortalidade. Também Seppä-Lassila *et al.* (2016) observou que o aumento da mortalidade em vitelos, até aos 7 dias de idade, estava associado a explorações de grande dimensão, e também a estratégias de manejo que não incluíam a separação dos vitelos doentes. Já a mortalidade entre os 7 e os 180 dias de vida, estava associada a explorações que forneciam leite aos vitelos durante um menor período de tempo, forneciam pouca quantidade de leite, e/ou mantinham os vitelos por um longo período na maternidade. Vitelos alimentados com quantidades de leite superiores a 10-12% do seu peso ao nascimento revelam uma melhor performance quando comparados com vitelos cuja alimentação apresenta deficiências nutricionais. Vitelos com deficiências nutricionais apresentam, normalmente, deficiências imunitárias que levam a um aumento da morbilidade (Khan *et al.*, 2001; Silper *et al.*, 2014; citado por Klein-Jöbstl *et al.*, 2014).

Vacas cujo úbere e pernas não sejam higienizados antes do momento do parto também podem representar uma fonte de infeção para vitelos que se mantenham com a vaca após o parto (McGuirk, 2003), sendo que Gulliksen *et al.* (2009a) demonstrou que vitelos que ingerem o colostro diretamente da vaca apresentam maior taxa de mortalidade do que vitelos aos quais o colostro é administrado manualmente. Ainda assim, mesmo em casos de alimentação manual, a contaminação do leite também constitui uma fonte de infeção (McGuirk, 2003).

A compra de vacas representa também um importante fator de risco, uma vez que estas podem introduzir novos agentes patogénicos na exploração, e o colostro de vacas criadas noutra exploração pode não conter os anticorpos necessários à proteção dos vitelos contra agentes específicos da exploração em causa (Torsein, *et al.*, 2011).

Svensson *et al.* (2006) demonstrou que vitelos alojados em pequenos grupos (3 a 8 vitelos), com alimentação manual individual, apresentam uma menor mortalidade durante os primeiros 3 meses de vida, quando comparados com vitelos em alojamentos individuais, ou em grandes grupos (6 a 30 vitelos), com alimentação automática, uma vez que o alimentador pode constituir uma fonte de disseminação, principalmente de agentes de doenças respiratórias. A cama do vitelo pode representar uma fonte de infeção fecal-oral, tanto por material inadequado, como por retenção de fezes entre cada ocupante, devido a má higiene e desinfecção, ou vazio sanitário reduzido (McGuirk, 2003).

3.3.1. Diarreia neonatal

Num estudo de Windeyer *et al.* (2014), em que mais de 23% dos vitelos, por exploração, foram tratados para diarreia, demonstrou-se que os principais fatores de risco para o desenvolvimento da afeção foram o peso ao nascimento, doenças concomitantes e a estação do ano em que nasceram.

A administração de colostro nas primeiras 2h de vida, diminui a incidência de diarreia, quando comparado com uma administração tardia. O aparecimento de diarreias é também menos comum quando os tratadores são mulheres, ou mulheres e homens, em vez de só homens (Al Mawly *et al.*, 2015). Svensson *et al.* (2003) demonstrou também uma maior incidência de diarreia em vitelos que ingeriram o colostro diretamente da mãe, em comparação com os que ingeriram por administração manual.

Medrano-Galarza *et al.* (2017) demonstrou que leite com contagens bacterianas elevadas (>100.000 ufc/mL) estava associado a um aumento da prevalência de diarreia neonatal.

Devido à influência negativa do alojamento de vitelos em grandes grupos, Svensson *et al.* (2003) concluiu que é vantajoso fazer um agrupamento mais tardio, tendo em conta que a probabilidade de contrair diarreia é maior até às 3 semanas de vida. Desta forma, é habitualmente aconselhado um alojamento individual nas primeiras semanas de vida do vitelo, uma vez que permite uma diminuição da carga microbiana a que este está exposto (Barrington *et al.*, 2002; citado por Klein-Jöbstl *et al.*, 2014), além de permitir realizar a alimentação individualmente, de acordo com as necessidades de cada vitelo, sendo a observação de possíveis doenças também mais fácil (Klein-Jöbstl *et al.*, 2014).

Teixeira *et al.* (2013) demonstrou que vitelos com menor peso ao nascimento, demonstraram ser mais suscetíveis à diarreia. Este verificou também, à semelhança de Svensson *et al.* (2006) que vitelos filhos de primíparas apresentaram maior incidência de diarreia, do que vitelos filhos de múltiparas, assim como peso mais reduzido. Também a vacinação constitui um fator, sendo que Al Mawly *et al.* (2015) constatou que vitelos filhos de mães não vacinadas apresentam maior incidência de diarreia, ao contrário de vitelos filhos de mães vacinadas contra rotavírus, coronavírus e *E. coli*.

Klein-Jöbstl *et al.* (2014) constatou que a higienização das áreas de parto se traduzia numa menor incidência de diarreias, sendo que vitelos que passavam mais tempo com as mães na maternidade tinham uma maior probabilidade de desenvolver diarreia, principalmente se a maternidade não fosse regularmente higienizada.

Vitelos resultantes de partos distócicos apresentaram, também, maior probabilidade de desenvolver diarreia (Lombard *et al.*, 2007; Teixeira *et al.*, 2013). Al Mawly *et al.* (2015) verificou que havia uma maior incidência de diarreias em machos que do em fêmeas. A explicação pode residir no facto de os vitelos machos levarem mais frequentemente a partos distócicos, por serem de maior tamanho, o que pode afetar a transmissão da imunidade passiva e atrasar a ingestão de colostro (Johanson & Berger, 2003; citado por Al Mawly *et al.*, 2015). Outra explicação poderá ser o maior valor económico das fêmeas, e daí uma maior atenção dada a estas, em detrimento dos machos (Al Mawly *et al.*, 2015).

Klein-Jöbstl *et al.* (2014) verificou que explorações maiores, reportavam mais problemas de diarreia, o que pode dever-se ao menor número de vitelos nas explorações pequenas, permitindo que seja dada

maior atenção a cada um, uma vez que em explorações maiores não foi verificado um aumento do pessoal responsável pelos vitelos. Também em explorações menores havia maiores cuidados com o colostro, o que também pode influenciar a prevalência de doenças. O mesmo foi concluído por Frank & Kaneene (1993), sendo que neste caso a causa foi atribuída à densidade maior de animais que verificaram nas explorações maiores (citado por Kehoe *et al.*, 2007).

Gulliksen *et al.* (2009a) verificou uma maior prevalência de diarreia em vitelos nascidos no inverno, explicando que tal pode dever-se à existência de um maior nível de agentes infecciosos nesta altura, devido às temperaturas mais baixas e humidade alta, o que variará de região para região. Também Al Mawly *et al.*, (2015) relatou que a exposição ao tempo frio aumentou a incidência de diarreias, quando comparado com vitelos alojados em ambientes fechados. Mohammed *et al.* (1999), encontrou uma ligação entre má ventilação nos parques dos vitelos e um aumento da incidência de diarreia por *Cryptosporidium parvum* (citado por: Medrano-Galarza *et al.*, 2017).

O material das camas, também foi apontado como um fator predisponente, sendo preferível as camas de palha às camas de serradura (Al Mawly *et al.*, 2015), e em situações em que era feita limpeza e adição de nova cama diariamente, a incidência de diarreia mostrou-se menor (Mohammed *et al.*, 1999 citado por Medrano-Galarza *et al.*, 2017).

Outra situação que pode influenciar o surgimento de diarreias é a presença de outras espécies animais na exploração, uma vez que podem ser hospedeiros de agentes causadores de diarreia, por exemplo *Cryptosporidium parvum* ou *Salmonella* spp. (McGuirk, 2008).

3.3.2. Doença respiratória

A doença respiratória em vitelos pode ser causada por uma grande variedade de vírus e bactérias (Norström *et al.*, 2000), mas os fatores ambientais e de manejo têm uma grande influência no desenvolvimento e na severidade da infeção (Gulliksen *et al.*, 2009b).

A existência de ventilação e humidade inadequadas, combinadas com uma grande densidade animal, criam condições ótimas ao desenvolvimento de aerossóis contaminados com agentes patogénicos, e de gases tóxicos como o amoníaco (McGuirk, 2003; Lago *et al.*, 2006). Gulliksen *et al.* (2009b) aponta como fatores predisponentes: as condições de alojamento, o clima, o manejo e a presença de agentes infecciosos.

Apesar da densidade animal ser um fator de risco para o desenvolvimento de pneumonia, Torstein *et al.* (2011), no seu estudo e, ao contrário do que seria de esperar, verificou uma menor taxa de mortalidade em explorações onde os vitelos com idades compreendidas entre os 4 e os 30 dias, eram alojados no mesmo sítio, em grupos com um maior número de animais.

Gulliksen *et al.* (2009b) observou que havia um aumento na incidência de doença respiratória quando vitelos com diferença de idade superior a 56 dias eram mantidos no mesmo grupo. O mesmo ocorre quando os vitelos são mantidos no mesmo espaço que os animais adultos durante a primeira semana de vida, ao invés de um espaço isolado, tal como quando são mantidos com as mães nas primeiras 24h, em vez de retirados imediatamente após o nascimento. O mesmo foi verificado por Medrano-Galarza *et al.* (2017), e esta acrescenta que também o uso de camas molhadas, e o uso da maternidade para outros propósitos, como por exemplo hospital, são também fatores predisponentes ao aparecimento tanto de doença respiratória como de diarreia neonatal.

Explorações de maior dimensão (>50 vacas) podem influenciar negativamente o desenvolvimento de doença respiratória (Norström *et al.*, 2000; Gulliksen *et al.*, 2009b). Essa ocorrência pode dever-se ao maior contato indireto que se verifica com outras explorações, uma vez que em grandes explorações haverá uma maior circulação de pessoas e veículos, que podem funcionar como possíveis vetores (Norström *et al.*, 2000), ou então devido à maior facilidade de contato animal com animal, uma vez que pode haver uma maior densidade animal (Gulliksen *et al.*, 2009b). Svensson *et al.* (2003) associa a maiores explorações, uma redução na inspeção individual, e animais que não são inspecionados frequentemente demonstram um maior risco de doença respiratória. Foi constatada, também em explorações maiores, uma maior variação na hora de administração do colostro, o que se traduz numa maior incidência de pneumonia, sendo que em explorações cujo colostro era administrado mais de 30 min após o nascimento, foi verificado aumento dessa incidência, que se acentuava em explorações cuja administração era feita mais de 4 horas após o nascimento (Gulliksen *et al.*, 2009b).

Gulliksen *et al.* (2009b) demonstrou que a severidade da doença era influenciada pelo sistema imunitário e a condição do vitelo. Vitelos com episódios prévios de diarreia, apresentaram maior incidência de pneumonia.

A estação do ano também influencia o aparecimento de doença respiratória, sendo mais comum no outono e inverno (Svensson *et al.*, 2006). Lundborg *et al.* (2005) relatou que vitelos expostos a correntes de ar superiores a 0,5 m/s, tinham um maior risco de aumento de sons pulmonares moderados a graves à auscultação, em comparação com vitelos protegidos de correntes de ar.

Teixeira *et al.* (2013) verificou que vitelos filhos de vacas que desenvolveram metrite após o parto, tiveram 1,9 vezes maior suscetibilidade de desenvolver pneumonia que vitelos cujas mães não desenvolveram metrite. Outra constatação relacionada com as mães é o número de partos, sendo que, contrariamente ao verificado nas diarreias, vitelos filhos de múltíparas revelaram maior probabilidade de desenvolver pneumonia do que vitelos filhos de primíparas (Lombard *et al.*, 2007).

Vitelos alimentados com alimentadores automáticos e alojados em grupos de 6 a 30 vitelos apresentaram maior incidência de doença respiratória do que vitelos alimentados manualmente e alojados em boxes individuais ou em grupos de 3 a 8 vitelos (Lundborg *et al.*, 2005).

3.4. Impacto económico futuro

Embora os custos de tratamentos e de prevenção possam ser elevados, o impacto económico que as doenças dos vitelos têm na sua performance futura, é ainda maior. Na maioria das explorações as perdas económicas são derivadas dos tratamentos e da má performance que os vitelos afetados têm ao longo da vida, uma vez que esses animais apresentam menores ganhos médios diários de peso (Magnier, 2014). Por exemplo, quando um vitelo desenvolve diarreia, o epitélio intestinal pode ficar gravemente lesado, e dependendo da severidade das lesões, a absorção dos nutrientes pode ficar comprometida até que as células regenerem, ou em casos de lesões demasiado extensas, em que a regeneração celular normal não acontece, o resultado pode ser vitelos permanentemente malnutridos (Jamaluddin *et al.*, 1996a).

Verifica-se uma redução do índice de crescimento nos vitelos até ao desmame, na ordem dos 8% em vitelos que desenvolveram pneumonia, 18% em vitelos que desenvolveram diarreia, e 29% em vitelos que desenvolveram ambas doenças (Anon, 2012; citado por Magnier, 2014).

A vida produtiva e reprodutiva da vaca é afetada negativamente devido ao atraso de crescimento que resulta das doenças que a acometeram enquanto vitela, levando a uma maior idade ao primeiro parto, e ao aumento da probabilidade de ser refugada precocemente (Sivula *et al.*, 1996). As doenças que se manifestam em vitelas e novilhas podem impedi-las de, uma vez adultas, expressarem todo o seu potencial genético (Heinrichs & Heinrichs, 2011). Novilhas que foram tratadas para pneumonia durante os primeiros 3 meses de vida, apresentavam 2,5 vezes maior probabilidade de morte após os 90 dias de idade, do que novilhas que nunca foram tratadas; novilhas com história de diarreia neonatal, apresentavam 2,5 vezes maior probabilidade de serem vendidas, e 2,9 maior probabilidade de parirem após os 30 meses (Waltner-Toews *et al.*, 1986; citado por Heinrichs & Heinrichs, 2011).

A existência de episódios de diarreia ou doença respiratória durante os primeiros 4 meses de vida das vitelas, apresenta repercussões significativamente negativas na primeira lactação, tanto na quantidade de leite produzida, como na quantidade de proteína e de gordura (Heinrichs & Heinrichs, 2011). Novilhas que necessitaram de mais de um tratamento para pneumonia, enquanto vitelas, apresentaram uma redução de aproximadamente 5% na produção de leite na primeira lactação, e 10% na segunda lactação (Morrison *et al.*, 2013).

A mortalidade em vitelos pode também levar a uma redução das novilhas disponíveis para reposição, obrigando a que sejam compradas novilhas para esse fim, sendo este um custo acrescido, além de ter implicações em termos de biossegurança da exploração (Torstein *et al.*, 2011).

4. O leite dado aos vitelos

4.1. Coloastro

É chamado colostro ao primeiro leite produzido pela vaca após o parto. O leite produzido nas seguintes 3 a 5 ordenhas é chamado de leite de transição, ao qual se segue a produção de leite inteiro (Yang *et al.*, 2015).

O colostro representa para o vitelo a primeira fonte de nutrientes, uma fonte vital de energia, proteínas, aminoácidos (essenciais e não essenciais), ácidos gordos, lactose, vitaminas e minerais (Kehoe *et al.*, 2007). É a fonte de imunoglobulinas e de outras moléculas com função imunitária que o vitelo necessita, como são exemplo: IgA, IgM, IgG, IGF-1, lactoferrina e lisozima (Yang *et al.*, 2015).

Os vitelos ao nascimento são desprovidos de imunoglobulinas circulantes, daí que a ingestão e absorção de uma quantidade adequada de imunoglobulinas colostrais (principalmente IgG) seja fulcral para a sua saúde e desenvolvimento. A maioria das imunoglobulinas é absorvida pelas células epiteliais do intestino delgado durante as primeiras horas de vida, e transportada pelo sistema linfático até à circulação sanguínea. As imunoglobulinas que não são absorvidas desempenham um papel protetor ao nível de doenças intestinais nas primeiras semanas de vida (Constable *et al.*, 2017).

Há vários fatores que podem influenciar os níveis de IgG absorvidos pelo vitelo, como: o tempo de vida com que o vitelo ingeriu o colostro, a quantidade de IgG ingerida, que é determinada pela quantidade de colostro ingerida e pela concentração de IgG nele contida, a eficiência de absorção das imunoglobulinas pelo neonato, e o grau de contaminação bacteriana do colostro (Constable *et al.*, 2017).

Para permitir uma boa imunidade passiva deve assegurar-se a ingestão de colostro 4 a 6 horas após o nascimento, perfazendo um total de pelo menos 4 a 5 litros de colostro até 8 horas após o nascimento (Heinrichs & Elizondo-Salazar, 2008; citado por Armengol & Fraile, 2016). A perda da capacidade absorptiva ocorre 24 a 36 horas após o nascimento, havendo uma redução significativa na capacidade de absorção 8 a 12 horas após o nascimento, sendo que qualquer atraso além das primeiras horas de vida, particularmente após 8 horas, reduz significativamente a quantidade de imunoglobulinas absorvidas (Constable *et al.*, 2017), levando a falhas na transferência de imunidade passiva de

imunoglobulinas, e privando o vitelo neonato de nutrientes essenciais à suplementação das suas muito reduzidas reservas (Kehoe *et al.*, 2007). A FTIP é definida como uma concentração sérica de IgG abaixo de 10 mg/dL, entre as 24 horas e os 7 dias de vida (Constable *et al.*, 2017), ou abaixo 5,5 g/dL de proteínas totais (PT) (Buczinski *et al.*, 2018). Podem ser considerados vários valores *cut-off* para o valor de PT (5,0; 5,2; 5,5 g/dL), apresentado estes diferentes sensibilidades e especificidades, tendo o *cut-off* de 5,5 g/dL revelado uma maior sensibilidade que outros valores, mantendo uma boa especificidade (Buczinski *et al.*, 2018).

A FTIP está associada a maior morbidade e mortalidade, e taxas de crescimento reduzidas (Constable *et al.*, 2017), que podem traduzir-se em reduções no ganho médio diário de peso na ordem das 48g durante o primeiro mês de vida (Virtala *et al.*, 1996), levando segundo Magnier (2014), a um aumento dos custos totais de tratamentos na exploração de 40%. Constable *et al.* (2017) acrescenta ainda que vitelas com uma boa transferência de imunidade passiva apresentam maiores produções na primeira e segunda lactação e menor probabilidade de serem refugadas durante a primeira lactação. Apesar de ir contra a grande maioria dos estudos recentes, Sivula *et al.* (1996) não verificou diferenças na morbidade e mortalidade de vitelos com uma boa transferência de imunidade passiva e vitelos com falha de transferência de imunidade passiva.

4.2. Alimentação líquida até ao desmame

Existem várias opções para programas de alimentação líquida para vitelos após o encolostramento, das quais fazem parte: leite inteiro de tanque, leite de transição, leite de desperdício e leite de substituição. De forma a escolher o alimento mais apropriado, há que ter em conta: o número de vitelos alimentados, os custos, as características nutricionais, as metas de crescimento dos vitelos, a disponibilidade de recursos, o controlo de doenças infecciosas, e preferências pessoais (Godden *et al.*, 2003a).

Do ponto de vista nutricional, o leite inteiro é a melhor escolha para a alimentação de vitelos (Zou *et al.*, 2017). A alimentação de vitelos com leite inteiro mostrou estar associada a uma menor taxa de mortalidade (Seppä-Lassila *et al.*, 2016), a uma maior velocidade de crescimento (Godden *et al.*, 2005) e a uma menor incidência de doença respiratória (Medrano-Galarza *et al.*, 2017). Tendo como exemplo um vitelo de 45 Kg, alimentado com 10% do seu peso em leite inteiro com média de 12,5% de sólidos totais, este consome diariamente aproximadamente 2,97 Mcal de energia metabolizável. Em contraste, para um vitelo alimentado com 562 g/dia de leite de substituição com 4,4 Mcal de energia metabolizável/Kg de matéria seca (MS), a ingestão seria de apenas 2,47 Mcal diárias. Assim, é de esperar que o primeiro vitelo ganhe aproximadamente 446 g/dia em peso, e o segundo apenas 289 g/dia, assumindo que a proteína não seria limitante em nenhum dos casos, sendo a diferença de

crescimento justificada apenas pela energia (Davis & Drackley, 1998; citado por Godden *et al.*, 2003a). O estudo de Godden *et al.* (2005), revelou um ganho médio diário de peso inferior em 0,12 Kg/dia nos vitelos alimentados com leite de substituição, quando comparados com vitelos alimentados com leite de desperdício pasteurizado.

Akins (2016) refere o impacto na produção futura, mostrando que vitelas alimentadas *ad-libitum* com leite inteiro, mostraram ter maiores produções na primeira lactação, do que vitelas alimentadas *ad-libitum* com leite de substituição.

Contudo, embora a alimentação com leite de substituição inicialmente seja uma alternativa mais económica, ao longo do tempo pode tornar-se menos viável, uma vez que vários estudos sugerem que a utilização rotineira de leite de substituição na alimentação de vitelos pode resultar numa ingestão deficiente de nutrientes, quando comparada com a alimentação com leite inteiro (Godden *et al.*, 2005), assim como numa variação na facilidade de digestão de alguns componentes (Medina *et al.*, 1983; citado por Moore *et al.*, 2009). Não obstante, existem leites de substituição de boa qualidade, mas representam custos económicos elevados (Stone, 2014), situação que levou alguns produtores a utilizar o leite de desperdício como uma alternativa económica (Moore *et al.*, 2009).

A produção de leite mamítico nas explorações situa-se entre 22 a 45 Kg/vaca/ano (Jansen, 1970; citado por Keys *et al.*, 1980) e este leite não pode ser vendido para consumo humano (Keys *et al.*, 1980). Teixeira *et al.* (2013) sustenta que a alimentação com leite de substituição representa um custo que pode ser reduzido alimentando os vitelos com leite de desperdício tratado.

4.3. O leite de desperdício

Leite de desperdício é a denominação dada ao conjunto de leite que pode conter: colostro, leite de vacas com mamite clínica, leite de vacas em intervalo de segurança após tratamento médico-veterinário, devido a mamite ou outra afeção, e leite de vacas com contagens de células somáticas elevadas (Aust *et al.*, 2013).

Embora a alimentação com leite de desperdício possa representar uma alternativa económica de nutrientes para vitelos em muitas explorações, este pode ter graves problemas de qualidade no que respeita ao risco de transmissão de agentes patogénicos infecciosos aos vitelos (Godden *et al.*, 2003a; Moore *et al.*, 2009; Pearce *et al.*, 2012).

4.3.1. Possíveis vantagens de utilização

Zou *et al.* (2017) verificou um teor de gordura do leite de desperdício maior do que os teores de gordura do leite de tanque e do leite de desperdício pasteurizado e acidificado. No mesmo estudo, o ganho de peso dos vitelos alimentados com leite de desperdício foi mais alto do que os ganhos de peso

dos vitelos alimentados quer com leite de tanque, quer com os leites de desperdício pasteurizado ou acidificado. A justificação poderá residir no facto de o leite de desperdício ter apresentado uma percentagem de gordura superior à dos outros leites, uma vez que este contém colostro e leite de transição (Zou *et al.*, 2017).

Jorgensen *et al.* (2006) analisou leite de desperdício pasteurizado, que mostrou ter uma média de gordura de 31,2% de MS, 1,3% superior à média do leite de tanque (NRC, 2001; citado por Jorgensen *et al.*, 2006); e de proteína de 28,1% de MS, 2,7% superior ao leite de tanque (NRC 2001; citado por Jorgensen *et al.*, 2006). O autor justifica estes valores com a presença de algum colostro ou leite de transição no leite de desperdício, levando a que este último tenha mais gordura, mais proteína e mais sólidos totais do que o leite de tanque. A energia metabolizável também foi superior (5,45 Mcal/Kg) à normalmente observada no leite de tanque (5,37 Mcal/Kg). Já em 2005, Godden *et al.* demonstrou que vitelos alimentados com leite de desperdício pasteurizado tinham acesso a maior quantidade de proteína, calorias, nutrientes e fatores imunes do que alimentados com leite de substituição, o que em termos práticos se traduziu em vitelas com maior ganho médio diário de peso.

4.4. Impacto da qualidade microbiológica

O leite ingerido pelos vitelos pode representar um veículo na transmissão de bactérias causadoras de doenças (Stabel *et al.*, 2004). A ingestão de leite contaminado com agentes patogénicos pelos vitelos, é um problema em explorações com altas taxas de morbilidade e mortalidade (McGuirk, 2003), uma vez que pode levar à transmissão de microrganismos, dos quais são exemplo: *Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis* (MAP), *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Mycobacterium bovis*, *Escherichia coli* (Lovett *et al.*, 1983; Farber *et al.*, 1988; McEwen *et al.*, 1988; Clark *et al.*, 1989; Giles *et al.*, 1989; Streeter *et al.*, 1995; Grant *et al.*, 1996a; Steele *et al.*, 1997; Walz *et al.*, 1997; citado por Stewart *et al.*, 2005), e *Cryptosporidium parvum* (McGuirk, 2003).

Alguns dos agentes patogénicos presentes no leite podem ser provenientes diretamente da glândula mamária, derivados de mamites, enquanto outros podem resultar de contaminação durante ou pós-colheita (por exemplo, com fezes) (Godden *et al.*, 2003a; Johnson *et al.*, 2007). Agentes patogénicos provenientes de mamites podem ser: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, agentes ambientais (McGuirk, 2003) e *Mycoplasma* (Butler *et al.*, 2000; Gonzalez e Wilson, 2003; citado por Stabel *et al.*, 2004). Outros agentes podem resultar: de limpeza inadequada dos tetos aquando da ordenha, como: *Mycobacterium paratuberculosis* ou *Salmonella*, sendo estes agentes também excretados no leite de vacas infetadas (Smith *et al.*, 1989; Spier *et al.*, 1991; Sweeney *et al.*, 1992; Streeter *et al.*, 1995; citado por Stabel *et al.*, 2004); de aparelhos de ordenha mal higienizados e

contaminados; e de leite armazenado em recipientes abertos (contaminação ambiental). A contagem também aumenta por proliferação quando a temperatura é elevada, se a refrigeração não for imediata (Godden *et al.*, 2003a; Moore *et al.*, 2009; Elizondo-Salazar, *et al.*, 2010).

Em 1996 a NAHMS sugeriu que entre 20% e 40% das explorações nos EUA estivessem infetadas com *Mycobacterium paratuberculosis* (citado por Stabel, 2001). Os vitelos são o principal alvo de infecção por *Mycobacterium paratuberculosis*, tornando-se infetados pela exposição à bactéria através de fezes, cama, colostro e leite contaminados (Stabel, 2001). Apesar dos sinais clínicos muitas vezes surgirem apenas após 3 a 5 anos, a maioria das vacas portadoras são infetadas com menos de 1 mês de idade (Chiodini *et al.*, 1984; citado por Stabel, 2001).

Altas contagens de coliformes são normalmente resultado de má higiene da vaca aquando da ordenha. Uma deficiente higienização do material de ordenha e do material de armazenamento do leite, assim como um mau arrefecimento deste, leva ao aumento de bactérias Gram-negativas, *Staphylococcus* e *Streptococcus* ambientais. O aumento destas bactérias ocorre também devido a biberons e chupetas mal higienizados, que representam a última fonte de contaminação (McGuirk, 2003).

4.4.1. Colostro

Contagens de bactérias torais superiores a 100.000 ufc/ml estão associadas a falhas de transferência da imunidade passiva. Muitos colostros contaminados apresentam também contagens de coliformes fecais excessivas, na ordem das 10.000 ufc/ml (McGuirk, 2003). McGuirk (2003) apresenta valores de contagens bacterianas que o colostro ingerido por vitelos deveria respeitar (Tabela 1).

Tabela 1: Contagens bacterianas ideais para colostro fornecido a vitelos.

Contagem de bactérias totais (ufc/ml)	< 100.000
Coliformes fecais	< 10.000
Outras bactérias Gram-negativas	< 50.000
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0
<i>Streptococcus não-agalactiae</i>	< 50.000
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i>	0
<i>Streptococcus coagulase negativo</i>	< 50.000
<i>Mycoplasma bovis</i>	0
<i>Salmonella</i>	0

Godden *et al.* (2012), reportou uma correlação entre a presença de coliformes e a absorção de IgG, sugerindo que a presença de bactérias diminui a absorção de IgG. Também Johnson *et al.* (2007) afirma que bactérias presentes no colostro podem reduzir a eficiência da absorção das imunoglobulinas. O mecanismo não está bem descrito, mas as IgG podem ligar-se às bactérias presentes no lúmen intestinal, a fim de neutraliza-las, o que resulta num menor número de IgG disponíveis para absorção (Johnson *et al.*, 2007); as bactérias podem também lesar as células intestinais de absorção, ou interferir com os recetores das IgG, uma vez que está descrito que a absorção de bactérias pelas células epiteliais é muito semelhante à absorção de IgG. Assim, é possível que haja competição entre ambas pelos mesmos recetores (Corley *et al.*, 1977; Baintner, 2007; citado por Gelsinger *et al.*, 2015). Outra explicação possível para uma maior concentração sérica de IgG em vitelos que ingerem leite com menor contaminação bacteriana, é a de vacas pertencentes a explorações com baixas contagens de células somáticas, conseguirem produzir colostros de qualidade nutricional superior, como demonstrou Kehoe *et al.* (2007).

4.4.2. Leite de desperdício

Há uma grande variação na contaminação entre leites: enquanto que leite inteiro de alta qualidade apresenta geralmente contagens inferiores a 50.000 ufc/ml, alguns leites de desperdício podem atingir contagens superiores a 1.000.000 ufc/ml (Reynolds, 2002; citado por Godden *et al.*, 2003a). Na Tabela 2 são apresentadas: contagens de três leites de substituição, sendo um deles fornecido em baldes novos; contagens de um leite de desperdício, significativamente mais elevadas (Contagens de bactérias torais (CBT) = 14.960.000 ufc/ml); e as contagens que seriam ideais (McGuirk, 2003).

Tabela 2: Contagens em diferentes tipos de leite usado na alimentação de vitelos, e as contagens que seriam ideais (adaptado de McGuirk, 2003).

	Leite subst. 1	Leite subst. 2	Leite subst. balde novo	Leite de desperdício	Contagens ideais
CBT (ufc/ml)	10.500.000	430.000	13.000	14.960.000	< 10.000
Coliformes fecais	7.900.000	50.000	0	12.900.000	0
Outras gram-negativas	2.600.000	305.000	9.500	0	< 5.000
<i>Streptococcus não-agalactiae</i>	0	50.000	0	650.000	< 5.000
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	0	25.000	3.500	0	< 5.000
Outras	<i>Bacillus</i> sp	0	0	<i>M. bovis</i>	0

A contagem de bactérias totais no leite de desperdício é significativamente mais alta do que as contagens de outros tipos de leite. Selim e Cullor (1997) testaram 165 amostras de leite de desperdício e identificaram *Streptococcus* sp em 51% das amostras, Enterobacteriaceae em 50% das amostras e *Staphylococcus* sp em 41% das amostras. A bactéria Gram-negativa mais frequentemente isolada foi *E. coli*, tendo sido isolada em 32% das amostras.

Medrano-Galarza *et al.* (2017) demonstrou que contagens de bactérias totais superiores a 100.000 ufc/mL resultaram numa maior prevalência de diarreia em vitelos. Zou *et al.*, (2017), ao observar vitelos alimentados com leite de desperdício não tratado, leite de desperdício pasteurizado e leite de desperdício acidificado, também verificou uma maior percentagem de fezes anormais nos vitelos que foram alimentados com leite de desperdício não tratado, assim como algum grau de inflamação no jejuno e íleo dos mesmos. Também Jorgensen *et al.* (2017) constatou que vitelos alimentados com leite com contagens de bactérias totais superiores a 100.000 ufc/mL, apresentaram um maior risco de demonstrar sinais anormais, no que diz respeito: à atitude, ao posicionamento das orelhas, à secreção ocular, e ao risco de desenvolver febre. Altas contagens de coliformes podem levar a altos níveis de endotoxinas, podendo culminar em endotoxemia (Moore *et al.*, 2009).

Há ainda uma hipótese remota sobre a possível disseminação hematogena na vida adulta das bactérias que colonizam as tonsilas dos vitelos, como *Streptococcus* e *Staphylococcus* spp., o que poderia vir a provocar mamite nas novilhas (Johnson, 1947; Barto *et al.*, 1982; citado por Aust *et al.*, 2013). Contudo, tanto o estudo de Barto *et al.* (1982) como o de Roberson *et al.* (1990) mostrou não haver relação entre a alimentação dos vitelos com leite de desperdício e o posterior desenvolvimento de mamite subclínica causada por *Streptococcus agalactiae* ou *Staphylococcus aureus* (citado por Jamaluddin *et al.*, 1996a).

Contudo, a contaminação bacteriana não é o único aspeto a ter em conta na qualidade do leite de desperdício. Moore *et al.* (2009) verificou baixos teores de sólidos (TS) em alguns leites de desperdício, o que pode dever-se à adição de água por parte dos produtores. A justificação pode passar também pelo facto de leite com altas contagens de células somáticas (CCS) estar associado a baixos teores de sólidos e proteína (Munro *et al.*, 1984; Politis e Ng-Kwai-Hang, 1988; citado por Moore *et al.*, 2009).

Outro aspeto a ter em conta é a presença de antibióticos no leite de desperdício e o possível desenvolvimento de resistências aos antibióticos por parte das bactérias intestinais dos vitelos (Godden *et al.*, 2003a). Duse *et al.* (2015) demonstrou que alimentar vitelos com leite de desperdício contendo leite de vacas submetidas a tratamento antibiótico durante a lactação, estava diretamente relacionado com o isolamento de *E. coli* resistente a partir de fezes de vitelos até ao desmame. O

mesmo foi demonstrado por Aust *et al.* (2013), que observou maior resistência aos grupos das cefalosporinas, quinolonas e sulfonamidas. Permanece a questão sobre a duração das resistências desenvolvidas, não estando esclarecido se se trata de um efeito transitório ou duradouro, uma vez que não foram isoladas bactérias em fezes de vitelos já desmamados (Aust *et al.*, 2013).

4.5. Tratamento do leite de desperdício

Atualmente as opções mais utilizadas para minimizar a exposição dos vitelos às bactérias presentes no leite de desperdício incluem: alimentar os vitelos com leite de substituição, eliminando assim o acesso ao leite contaminado; ou uma vez utilizado leite de desperdício, o tratamento deste, recorrendo a pasteurização, radiação ultravioleta ou acidificação (Parker *et al.*, 2016).

4.5.1. Inativação bacteriana por calor

A utilização de pasteurizadores nas explorações dá oportunidade aos produtores de utilizarem o leite de desperdício, reduzindo a sua contaminação com agentes patogénicos, e reduzindo também os custos associados à utilização de leite de substituição (Stone, 2014). A pasteurização do leite de desperdício e colostro tem o intuito de minimizar os potenciais riscos destes na saúde dos vitelos alimentados pelos mesmos. Este processo é atingido através de um de dois métodos: aquecimento por lote a 63°C durante 30 minutos, chamado “baixa temperatura, longa duração” (LTLT); ou aquecimento a 72°C durante 15 segundos, chamado “alta temperatura, curta duração” (HTST) (Aust *et al.*, 2013).

Para uma pasteurização bem sucedida, é imprescindível que o leite a pasteurizar seja um produto relativamente limpo (Stone, 2014). Quando este é de má qualidade, com uma concentração bacteriana inicial muito elevada, é expectável que a inativação dos agentes patogénicos presentes não seja completa (Godden *et al.*, 2003a).

A eficiência da pasteurização depende de uma relação entre a temperatura atingida, e o tempo em que esta é mantida. Existe uma grande variedade de agentes e todos eles são sensíveis a diferentes combinações de temperatura/tempo (Stone, 2014). Embora a pasteurização nas explorações seja aplicada com vista à inativação das bactérias patogénicas, este processo é pouco ou nada eficaz na eliminação de esporos (Butler *et al.*, 2000; Stabel *et al.*, 2004; Godden *et al.*, 2006; Jorgensen *et al.*, 2006; Trujillo *et al.*, 2007), protozoários (Fayer, 1994; Harp *et al.*, 1996), maioria dos vírus (Baumgartener *et al.*, 1976; Rubino e Donham, 1984) e *Mycobacterium avium paratuberculosis* (Meylan *et al.*, 1996; Millar *et al.*, 1996, Sung & Collins, 1998, Grant *et al.*, 1999, 2002; Gao *et al.*, 2002), mas pode resultar numa redução substancial de agentes patogénicos, na ordem de 4–7 log

(Pearce *et al.*, 2001; Hammer *et al.*, 2002; Grant *et al.*, 2005; McDonald *et al.*, 2005; citado por Aust *et al.*, 2013 e Deng *et al.*, 2017).

Elizondo-Salazar *et al.* (2010) verificou que tanto com HTST (71.6°C por 15s), como com LTLT (62.7° por 30 min), foi conseguida eliminação completa de *S. aureus*, e *Streptococcus agalactiae*. No seu estudo foram analisadas amostras recolhidas duas vezes por dia, durante 15 dias, das pasteurizações levadas a cabo por 6 explorações, em que duas delas usavam pasteurização por HTST (71.6°C por 15 s), outras duas utilizavam LTLT ou método de pasteurização por lote (62,7°C por 30 minutos); e as últimas duas utilizavam um sistema LTLT modificado, em que o lote tinha sido feito artesanalmente. Após a pasteurização, 96% das amostras demonstraram ter CBT < 20.000 ou < 10.000 ufc/mL. Quase todas as amostras cumpriram o limite de contagens <5,000 ufc/mL para: Streptococci ambientais (98%), para Staphylococci coagulase-negativos (99%), e para outras bactérias Gram-negativas (100%). Relativamente aos coliformes, 92% das amostras tiveram contagens < 100 ufc/mL e 80% < 10 ufc/mL. Também num estudo recente de Gelsinger e Heinrichs (2017), a pasteurização a 60°C durante 60 minutos (LTLT) reduziu uma contagem de bactérias totais inicial de 4,1 log ufc/mL, a 1,3 log ufc/mL e eliminou completamente coliformes que tinham uma contagem inicial de 2,8 log ufc/mL. Apesar de ambos os métodos terem estudos com resultados satisfatórios, Grant *et al.* (1999), defende que a pasteurização é mais efetiva quando o leite é submetido a um maior período de tempo, ao invés de uma maior temperatura (citado por Zou *et al.*, 2017)

Stabel *et al.* (2004) testou a eficácia da pasteurização HTST, feita na exploração, a 71,5°C durante 15 segundos para: *M. paratuberculosis*, 3 serovares de *Salmonella* (Derby, Dublin e Typhimurium), e 4 espécies de *Mycoplasma* (*bovis*, *californicum*, *canadense* e serogrupo 7). Após a pasteurização e posterior arrefecimento à temperatura ambiente durante 30 minutos, não foram isoladas quaisquer bactérias viáveis, concluindo que a pasteurização se trata de um processo eficaz, tanto a nível de resultados como de rapidez do processo, uma vez que a temperatura pretendida foi atingida em 9 minutos, sendo este método menos moroso e mais automatizado do que a pasteurização por lote. Verificou também que quando o leite contaminado com *M. paratuberculosis* era submetido a menores temperaturas (entre 63,9 e 66,7°C) esta espécie não era completamente eliminada. Contudo, Stabel (2001) observou a destruição completa de *M. paratuberculosis* em leite de desperdício submetido a pasteurização por lote a 65,5°C durante 30 minutos, levando Stabel *et al.* (2004) a concluir que o aquecimento progressivo durante o tempo necessário a atingir a temperatura final, também contribuiu para a redução da contaminação.

Após a pasteurização as bactérias sobreviventes irão multiplicar-se se o leite não for arrefecido. Por isso, os pasteurizadores devem ser equipados de forma a arrefecer rapidamente o leite até à

temperatura de alimentação, imediatamente após a pasteurização, devendo o leite ser dado aos vitelos assim que termine o processo (Godden *et al.*, 2003a). Elizondo-Salazar *et al* (2010), verificou também que as contagens de todas as bactérias aumentaram entre o final da pasteurização e o momento em que o leite era administrado aos vitelos, o que indica que há multiplicação das bactérias remanescentes nesse intervalo, assim como contaminação do exterior ou dos equipamentos.

Alterações na constituição e absorção do colostro

Nenhum dos métodos de pasteurização é considerado ideal para a pasteurização de colostro. Na pasteurização por HTST a viscosidade do colostro aumenta, adquirindo consistência de “pudim”, e tanto por HTST como por LTLT há desnaturação de imunoglobulinas (Stone, 2014).

Stabel *et al.* (2004) verificou que o processo de pasteurização HTST, a 71,5°C durante 15 segundos, levou a uma diminuição de 25% da concentração de imunoglobulinas, assim como a um aumento de viscosidade quando são atingidas temperaturas de 68 a 72°C. Relativamente à pasteurização a 63°C durante 30 minutos (LTLT), com arrefecimento automático até 37-41°C, Godden *et al.* (2003b) constatou uma redução significativa na concentração de IgG, com reduções percentuais de 58,5% nos lotes de grande dimensão (95 L) e 23,6% para lotes de média dimensão (57 L), resultando em concentrações de IgG séricas nos vitelos alimentados com colostro pasteurizado menores (9,7 mg/mL) do que quando alimentados com colostro fresco (19,1 mg/mL). Relativamente à viscosidade, esta relação de tempo/temperatura com lotes de 57 L produziu um alimento de consistência normal ou ligeiramente mais viscosa, que pode ser fornecida aos vitelos e facilmente limpa do equipamento. Já o uso de mais de uma dúzia de lotes em HTST mostra-se inconveniente, pois produz um produto final com consistência de “pudim espesso”, que não é bem aceite pelos vitelos e é difícil de limpar do equipamento (Godden *et al.*, 2003b).

Embora estudos anteriores mostrem que a pasteurização reduz a concentração de IgG e aumenta a viscosidade, Johnson *et al.* (2007) verificou que o tratamento do colostro na exploração por pasteurizadores em lote a 60°C por 60 minutos (LTLT), manteve a concentração de IgG e a fluidez. Além da redução na contaminação bacteriana, os vitelos alimentados com o colostro pasteurizado revelaram uma maior concentração sérica de proteínas totais (PT) e de IgG (PT = 6,3 mg/dl; IgG = 22,3 mg/ml), quando comparados com os vitelos controlo (PT = 5,9 mg/dl; IgG = 18,1 mg/ml). No entanto, não houve qualquer efeito noutros componentes como IgA, IgM, vitaminas A e E, colesterol ou β -caroteno. Também no estudo de Elizondo-Salazar e Heinrichs (2009) com pasteurização a 60°C durante 30 minutos, não foram observadas diferenças entre colostro tratado e não tratado, quer na concentração de IgG, quer na viscosidade. Além disso, os níveis séricos de IgG foram mais altos nos vitelos que consumiram colostro pasteurizado.

São recomendados protocolos de pasteurização de colostro de 60°C durante 60 min, baseados no facto de esta combinação de tempo/temperatura não afetar demasiado quer a viscosidade, quer a concentração de IgG (Johnson *et al.*, 2007; Elizondo-Salazar & Heinrichs. 2009), enquanto elimina ou reduz significativamente agentes como *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella* Enteritidis e *M. avium* ssp. *paratuberculosis* (Godden *et al.*, 2006; McMartin *et al.*, 2006; citado por Johnson *et al.*, 2007).

Estudos mais recentes de Armengol e Fraile (2016) mostram que a pasteurização tem benefícios para os vitelos, mas não foram encontradas diferenças nas proteínas totais em vitelos alimentados com colostro pasteurizado e não pasteurizado. Também no estudo de Gelsinger e Heinrichs (2017) a pasteurização a 60°C durante 60 minutos não aumentou os valores de IgG séricos, e estes verificaram que nos estudos em que o contrário se verificou, era usado colostro com baixas concentrações iniciais de IgG e altas concentrações bacterianas. O facto de a pasteurização diminuir a concentração bacteriana, é uma importante contribuição para o aumento da absorção da IgG, assim como para o aumento da sua concentração plasmática (Gelsinger *et al.*, 2015). No seu estudo, Gelsinger e Heinrichs (2017) obtiveram uma concentração bacteriana inicial de 4,1 log ufc/mL, inferior às contagens de estudos anteriores. Assim, a baixa contagem total de bactérias e de coliformes inicial, combinada com a menor ingestão de IgG por parte dos vitelos que ingeriram colostro pasteurizado (uma vez que as IgG colostrais foram reduzidas em 9,4%, resultando em menos 38,2 gramas ingeridas), fez com que a quantidade de IgG absorvidas por cada grupo não mostrasse diferenças significativas. Ainda assim, todos os vitelos apresentaram concentrações plasmáticas acima do limiar necessário para se considerar a transferência passiva de imunidade com sucesso.

Além da diminuição da concentração de IgG, foi demonstrado por Teixeira *et al.* (2013) que a pasteurização a 63°C por 60 minutos, também diminui a concentração de lactoferrina (proteína que sequestra ferro e atua como bacteriostático).

É expectável que o processo de pasteurização do colostro desnature também alguns, ou todos, os leucócitos colostrais (Johnson *et al.*, 2007). Os leucócitos são absorvidos pelo intestino até ao tecido linfático e circulação, onde exercem um papel importante no desenvolvimento do sistema imunitário do vitelo (Donovan *et al.*, 2007; Reber *et al.*, 2008a,b; citado por Godden *et al.*, 2012). Koewler *et al.* (2010) verificou que o processo de pasteurização reduzia a viabilidade dos leucócitos colostrais (citado por Godden *et al.*, 2012). No entanto, no estudo de Godden *et al.* (2012) os vitelos alimentados com colostro pasteurizado apresentaram menor morbilidade em comparação com os bezerros alimentados com colostro fresco, o que o levou a concluir que o benefício da redução microbiana supera o custo (ainda não conhecido) de reduzir a concentração de leucócitos colostrais viáveis.

Influência na performance dos vitelos

Jamaluddin *et al.* (1996a) reportou que alimentar vitelos com leite de desperdício pasteurizado aumentava o ganho de peso e reduzia a morbidade e mortalidade, quando comparado com a alimentação com leite de desperdício não tratado. Armengol e Fraile (2016) observaram uma diminuição da morbidade (9,8%) e da mortalidade (3,7%) nos animais alimentados com colostro e leite pasteurizado, quando comparados com animais alimentados com colostro e leite não pasteurizado. Vitelos alimentados com colostro pasteurizado e leite de desperdício pasteurizado até ao desmame, continuavam a ter ganhos médios diários de peso significativamente mais elevados mesmo após o desmame, continuando com melhores performances do que vitelos que tinham sido alimentados com leite não tratado (Jamaluddin *et al.*, 1996a).

Já Aust *et al.* (2013) não encontraram qualquer diferença de GMD ou de parâmetros de saúde entre diferentes grupos de vitelos, dos 3 aos 56 dias, alimentados com leite de desperdício pasteurizado e não pasteurizado. Possíveis justificações para a ausência de efeitos positivos neste estudo podem ser: maus padrões de higiene na exploração do estudo, o facto da carga bacteriana do leite de desperdício ter variado acentuadamente durante o período do estudo, e a recontaminação do leite após a pasteurização pelos recipientes de armazenamento e transporte do leite, assim como dos baldes de alimentação, o que pode ter mascarado os efeitos positivos da pasteurização.

Godden *et al.* (2012) comparou dois grupos de vitelos, um deles alimentado com colostro fresco, e o outro com colostro pasteurizado (60 min a 60°C) e verificou um maior número de vitelos tratados para diarreia no grupo de vitelos alimentados com colostro fresco. Tanto Elizondo-Salazar e Heinrischs (2009), como Gelsinger *et al.* (2015) verificaram que a pasteurização não influenciou a presença de pneumonias, mas o último observou a influência do leite pasteurizado na frequência de diarreias, havendo mais diarreias nos vitelos alimentados com leite não tratado.

A alimentação de vitelos com leite de desperdício pasteurizado ao invés de leite de desperdício não tratado leva a uma redução de custos, no que toca à mortalidade e tratamento de doenças, o que sugere que a pasteurização pode trazer grandes vantagens económicas para os produtores (Stabel *et al.*, 2004). Contudo, há que ter em conta a dimensão da exploração pois o custo da implementação de uma unidade de pasteurização efetiva é bastante significativo, sendo que um estudo de viabilidade económica de Jamaluddin *et al.* (1996b) propôs um limite mínimo de 315 vitelos a serem alimentados por dia, o que equivale a uma exploração com 1.260 vacas em ordenha. Mais recentemente Godden *et al.* (2005) sugeriu um limite mínimo de 23 vitelos alimentados por dia, e Stone (2014) um limite de 50 vitelos (Tabela 3).

Tabela 3: Estimativa do tempo de recuperação do investimento de um pasteurizador (HTST), por comparação com o custo médio do leite de substituição, de acordo com o número de vitelos/dia nua exploração e assumindo 6 L de ingestão diária (Adaptada de Stone, 2014)⁶.

Vitelos/ ano	Custo de leite de substituição anual (€)	Custo do pasteurizador (€)	Custos diários (€)			Tempo de recuperação do investimento
			Limpeza	Calor	Mão de obra	
50	2.887	4.912 – 9.480	0,43 – 1,72	0,09 – 0,34	5,17	6 anos - nunca
100	5.774	7.239 – 9.480	0,64 – 1,98	0,21 – 0,73	6,89	3 – 4 anos
200	11.548	7.239 – 9.480	0,64 – 1,98	0,86	8,62	11 – 15 meses
500	28.870	8.187 – 20.941	1,38 – 2,76	0,86 – 1,72	10,34	4 – 10 meses
1000	57.740	8.446 – 20.941	1,38 – 2,76	2,58	10,34	2 – 5 meses

4.5.2. Inativação bacteriana por UV

A luz ultravioleta (UV) é um método de inativação bacteriana mais comumente usado em sumos de fruta e desinfecção de sistemas de água (Guerrero & Barbosa-Canovas, 2004). A inativação dá-se pela criação de ligações covalentes entre os ácidos nucleicos do DNA bacteriano, que resultam no bloqueio da transcrição e replicação do DNA, o que leva à incapacidade de multiplicação da bactéria, e eventualmente à morte (Guerrero & Barbosa-Canovas, 2004).

Os sistemas de tratamento de fluxo com UV pulsátil comercialmente disponíveis para inativação bacteriana em leite de desperdício para vitelos, utilizam séries de luzes UV, fluindo o leite repetidamente através do sistema de forma a aumentar a dose cumulativa de luz UV a que este é exposto (Gelsinger *et al.*, 2014). Apesar de esta técnica ainda estar sujeita a debate, tem sido referida como sendo mais eficaz do que a exposição contínua a luz UV, uma vez que a exposição pulsátil tem maior poder de emissão (Oms-Oliu *et al.*, 2010; citado por Miller *et al.*, 2012). Contudo, além de pouco estudados, os resultados da redução bacteriana no leite de desperdício através deste processo são muito variáveis (Gelsinger *et al.*, 2014).

A composição e a consistência de um líquido podem afetar a ação da radiação UV e a sua atividade bactericida (Foley & Otterby, 1978). Desta forma, além da quantidade de radiação UV utilizada, o total de sólidos presentes no líquido, o seu volume e transparência, assim como o tipo e número de organismos presentes, afetam o sucesso da inativação bacteriana (Guerrero & Barbosa-Canovas, 2004). Os sólidos, quer dissolvidos quer em suspensão, podem dispersar a luz UV, providenciando

⁶ 1\$ = 0,86€; a 19 de junho de 2018

locais para agregação bacteriana, atenuando desta forma a sua atividade bactericida (Koutchma *et al.*, 2004; Ye *et al.*, 2007; citado por Teixeira *et al.*, 2013). Este facto revela-se um entrave ao tratamento de colostro, uma vez que o colostro tem uma consistência mais espessa do que o leite de desperdício e concentrações mais elevadas de sólidos totais (23,9% vs. 12,9%), gordura (6,7% vs. 4,0%) e proteína (14,0% vs. 3,1%) (Godden, 2008), o que leva a que a taxa de inativação bacteriana por radiação UV seja mais baixa no colostro do que no leite de desperdício (Teixeira *et al.*, 2013).

Miller *et al.* (2012) testou a eficácia da inativação de *E. coli*, inoculada na concentração de 10^7 ufc/mL em leites com diferentes composições, pela luz UV pulsátil em doses de $14,9 \text{ J/cm}^2$, tanto em modo estático como em fluxo turbulento. Em leites concentrados, entre 25 e 45% de sólidos totais, as reduções foram inferiores a 1 log, mesmo em modo de fluxo turbulento. Já nos leites apenas com 9,8% de sólidos totais, a inativação foi de 2,5 log, apenas com $8,4 \text{ J/cm}^2$, revelando assim boas reduções para leites fluidos.

Teixeira *et al.* (2013) afirma que o tratamento de leite de desperdício através de radiação UV é menos eficaz na redução de contagens bacterianas do que a pasteurização por calor. Altic *et al.* (2007) reportou uma redução de 2,6 log no leite inteiro exposto a 2.860 mJ/mL de UV (citado por Gelsinger *et al.*, 2014). Donaghy *et al.* (2009) reportou uma redução de 1,1 log, com recurso a uma dose de 1.836 mJ/mL , o que representa uma pequena redução quando comparada com as reportadas por pasteurizações quer por LTLT quer HTST (Stabel, 2011; Stabel *et al.*, 2004 respetivamente) (citado por Gelsinger *et al.*, 2014). Teixeira *et al.* (2013) verificou que a redução de ufc/mL se mostrou maior na pasteurização HTST do que na radiação UV, para *E. coli* e *Streptococcus*, e semelhante entre ambos para *S. aureus*. Todavia, a contagem de bactérias totais (CBT) foi consideravelmente menor após pasteurização por HTST.

Também Engin e Yuceer (2012) verificaram diferentes log de redução para diferentes bactérias, sendo a redução de coliformes e *Staphylococcus* de aproximadamente 4 e 3 log ufc/mL, respectivamente, mas para bactérias aeróbias, de apenas de 2 log (citado por Gelsinger *et al.*, 2014). No que respeita a *Mycobacterium avium paratuberculosis*, Donaghy *et al.* (2009) conclui que o uso de radiação UV por si só não representa uma alternativa viável para a inativação de MAP. A radiação UV mostrou-se efetiva na eliminação de algumas bactérias encontradas no leite de desperdício, mas não todas. Desta forma os produtores devem ter em conta as espécies de bactérias que pretendem reduzir ao considerar um sistema de tratamento por UV.

No estudo de Gelsinger *et al.* (2014), em que foi avaliado o sucesso da inativação bacteriana no leite de desperdício pela radiação UV feita nas explorações, 47% das amostras analisadas após tratamento UV respeitaram os critérios existentes para a pasteurização (CBT < 20.000 ufc/mL e contagem de coliformes < 10 ufc/mL (FDA, 2013; citado por Gelsinger *et al.*, 2014)), sendo que 84% das amostras

apresentaram < 20.000 ufc/mL de CBT, e 47% das amostras tinham contagens < 10 ufc/mL de coliformes.

Pereira *et al.* (2014) verificou a eficácia do tratamento por radiação UV, em sistema de fluxo contínuo na dose de 45 J/cm², em leite inteiro e colostro e verificou que no primeiro havia uma redução significativa de *Listeria monocytogenes*, *Samonella*, *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp. e *Acinetobacter baumannii*, mas não de *Mycobacterium smegmatis*. No tratamento do colostro mostrou-se eficaz na redução de *Listeria* spp. e *Salmonella* spp., mas não na redução de *E. coli*, *Streptococcus agalactiae* e *S. aureus*.

Matak *et al.* (2005) reportou uma diminuição de 5,4 log ufc/mL de *L. monocytogenes*, com uma exposição de 16,9 mJ/cm² usando um sistema de fluxo, em leite de cabra cru, com 12% de sólidos, média de gordura de 4,13% e média de proteína de 2,3%, com contagens iniciais de *L. monocytogenes* entre 2×10^7 e $2,8 \times 10^7$ ufc/mL.

Alterações na constituição e absorção do colostro

O estudo de Teixeira *et al.* (2013) também demonstrou uma diminuição de IgG, tanto na pasteurização por HTST, como no tratamento por radiação UV, havendo uma redução de 24,2% na pasteurização por HTST e 42,8% no tratamento por UV. Apesar destes resultados, não houve diferença de concentrações sorológicas de IgG nas vitelas tratadas com o colostro original, HTST e UV, 3 dias após a ingestão. Também Pereira *et al.* (2014), verificou uma redução de aproximadamente 50% na concentração de IgG colostrais.

Uma vantagem do tratamento por radiação UV em relação à pasteurização por HTST é a conservação da concentração da lactoferrina, ao contrário do que acontece na pasteurização por HTST (Teixeira *et al.*, 2013).

4.5.3. Inativação bacteriana por acidificação

A acidificação do leite baixando o pH para valores entre 4 e 4,5, torna-o num ambiente impróprio para a multiplicação e sobrevivência de bactérias, mas mantém as suas características nutricionais (Anderson, 2008), representando assim um método de processamento de leite (Deng *et al.*, 2017), e uma alternativa prática, simples e económica para explorações de menor dimensão (Yanar *et al.*, 2006; Anderson, 2008; Parker *et al.*, 2016).

A acidificação intencional do leite dado aos vitelos, recorrendo a ácidos orgânicos, apresenta resultados satisfatórios na redução da incidência de diarreias (Yanar *et al.*, 2006), mas a alimentação com leite acidificado espontaneamente pode não apresentar os mesmos efeitos positivos (Moore *et al.*, 2009).

Os ácidos mais frequentemente utilizados são o ácido acético, adípico, benzóico, cítrico, fórmico, fumárico, málico e propiónico, podendo também utilizar-se sais de sódio destes ácidos. Segundo Muller e Syhre (1974), estes ácidos atuam como antimicrobianos a pH baixo, sendo digeríveis para os vitelos (citado por Silvestre, 2009). Anderson (2006) recomenda um pH final de 4,2 para a acidificação de leite inteiro e colostro.

Este método também permite, após acidificação com ácido fórmico, que o leite seja armazenado a temperatura ambiente durante vários dias, quando a refrigeração não é possível. Contudo, nas estações quentes a refrigeração vai permitir uma melhor preservação quando são ultrapassados 20 dias (Anderson, 2008; Deng *et al.*, 2017). Na Finlândia e noutros países nórdicos e europeus, assim como no Canadá e certos estados dos EUA, é habitual alimentar vitelos com leite de desperdício preservado com ácido fórmico (Anderson *et al.*, 2008).

Anderson (2008) realizou culturas de leite de tanque com um grupo de controlo e um grupo acidificado, armazenados à temperatura ambiente. Foi verificada uma rápida multiplicação bacteriana na cultura de controlo, ao ponto de impossibilitar a contagem, enquanto que na cultura do mesmo leite acidificado com ácido propiónico a pH de 4,2, não houve qualquer desenvolvimento bacteriano, após várias horas.

A capacidade dos diferentes ácidos, em inibir ou matar bactérias, leveduras ou fungos, varia não só pelo ácido em questão, como pelo agente presente, uma vez que cada agente apresenta diferentes pH de inativação (Tabela 4). A informação sobre o tempo de contacto necessário à inativação de bactérias específicas presentes no leite de tanque, leite de desperdício e colostro é escassa, havendo produtores que alimentam os vitelos logo após a acidificação, e fazendo-o outros, 6 a 12 horas depois (Anderson, 2008).

Tabela 4: Descrição dos valores de pH em que há multiplicação de várias bactérias com interesse nas explorações leiteiras, do pH de multiplicação ótimo, e do pH de inativação, em condições de laboratório.

	Multiplicação ótimo	Intervalo de multiplicação	Inativação
<i>Bacillus cereus</i>	6,0 – 7,0	4,3 – 9,3	< 4,3 e > 9,3
<i>Clostridium perfringens</i>		5,5 – 9,0	< 5 e > 8,3
<i>Clostridium botulinum</i>		4,6 – 9,0	< 4,6 e > 9
<i>E. coli</i>		4,4 – 9,0	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5,8 – 6,6	4,4 – 4,6 – 6,8	< 4,4

Tabela 4: Continuação.

<i>Listeria monocytogenes</i>	7,0	4,4 – 9,4	
<i>M. avium paratuberculosis</i>	6,0 – 7,0	5,0 – 7,0	< 5 (s/ multiplicação)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,6 – 7,0	5,6 – 8,0	< 5,6
<i>Salmonella spp</i>	7,0 – 7,5	3,8 – 9,5	< 4,4
<i>Staphylococcus aureus</i>		4,2 – 9,3	< 4,2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7,8	6,5 – 8,3	< 4,5
<i>Vibrio cholerae</i>	7,6	5,0 – 9,6	

O ácido fórmico é classificado como um ácido orgânico "forte" ($pK_a=3,74$), e é autorizado para uso em alimentos para animais no Canadá e outros países. Contudo a acidificação com ácido fórmico não mata todos os agentes patogénicos presentes no leite. Em culturas realizadas ao leite inteiro de algumas vacas, verificou-se não haver multiplicação de coliformes após um tempo de contato de uma hora a pH 4,1. Também não foi encontrada multiplicação de *Staphylococcus aureus* após um tempo de contacto de 4-6 horas a pH 4,1. Existe, no entanto, necessidade de estudar os efeitos do ácido fórmico noutras bactérias comuns no leite, como *Mycoplasma spp* (Anderson, 2008).

Anderson (2008) verificou multiplicação sobretudo de *Staphylococcus* e *Streptococcus* em leite acidificado e raramente de coliformes. O ácido fórmico é muito eficaz na eliminação de coliformes, não tendo sido isolados coliformes 1 horas após a exposição a pH 4,1 em leite inteiro. A maioria das amostras não apresentou multiplicação, ou apresentou menos de 1.000 ufc/mL. Para inativação de *S. aureus*, é sugerido um pH de 4,2 durante 10 a 12 horas antes da alimentação dos vitelos.

No estudo de Anderson (2008) a acidificação de leite com ácido fórmico a pH 4, eliminou 90% de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, com uma exposição de 8 horas. Prolongando a exposição para 48 horas, a eliminação foi de 100%.

Parker *et al.* (2016) estudou a eficácia de um acidificante comercial (Salstop) em leite de desperdício. O produto era composto por uma mistura de ácidos propiónico, acético, fórmico, sórbico e láctico, e mostrou-se efetivo na eliminação de *M. bovis* e *Salmonella* Dublin, quando o pH e tempo de exposição apropriados eram alcançados: pH de 4 durante 1 hora para a primeira, e durante 6 horas para a segunda.

Carneiro e Bexiga testaram a eficácia da acidificação de leite de desperdício com um produto à base de sulfato de cálcio. A CBT inicial do leite era de $1,04 \times 10^7$ ufc/mL, e 30 min após a mistura do acidificante na concentração de 1%, a CBT reduziu para $3,11 \times 10^5$ ufc/mL. Quando utilizada a

concentração de 1,5% verificaram que a concentração bacteriana ao fim de 30 minutos era de zero (comunicação pessoal, julho, 2017).

Zou *et al.* (2017) concluiu que a eficiência da alimentação com leite de desperdício pasteurizado e acidificado era semelhante, e a acidificação do leite de desperdício era simples, económica, e eficaz na prevenção de diarreia. No estudo comparativo de Zou *et al.* (2017), vitelos que eram alimentados com leite de desperdício acidificado apresentaram menor incidência de diarreias do que os vitelos alimentados com leite de tanque e leite de desperdício não tratado. No entanto, através de achados histológicos, verificaram que o leite de desperdício acidificado e o leite de desperdício não tratado, poderiam causar reação inflamatória do jejuno e íleo.

Schieder (2013) afirma que leite acidificado com ácidos orgânicos, resulta numa melhor digestibilidade, maior ganho médio diário de peso, e menor necessidade de recorrer a terapêuticas, levando a menores perdas económicas. Tu *et al.* (2011) justifica o aumento de peso, com o aumento da palatabilidade e consequentemente da ingestão, provocada pela adição do ácido fórmico (citado por Zou *et al.*, 2017). Godden *et al.* (2003a) também refere que o produto resultante da acidificação é um produto nutritivo que é facilmente aceite pelos vitelos, exceto, segundo Anderson (2005), quando o pH é menor do que 4. Um inconveniente do processo, é o facto de o pH baixo (~4,5) provocar alterações na estrutura da proteína do leite, o que pode resultar em coagulação proteica e formação de coalho (Godden *et al.*, 2003a).

Tu *et al.* (2011) verificou que a digestibilidade dos nutrientes no leite de substituição e o crescimento do vitelo podem ser melhorados quando o pH é descido apropriadamente (citado por Zou *et al.*, 2017). Também Yanar *et al.* (2006) afirma que a adição de ácidos orgânicos ao leite de substituição dos vitelos tem tido um efeito positivo, resultando numa menor incidência de diarreia nos vitelos. A maioria dos estudos sobre acidificação de leite são feitos comparando leite pasteurizado e leite de substituição acidificado, havendo ausência de estudos publicados sobre a diferença entre alimentar vitelos com leite de desperdício pasteurizado e leite de desperdício acidificado (Zou *et al.*, 2017).

5. Objetivos

O leite de desperdício é amplamente utilizado por muitas explorações leiteiras para alimentação das vitelas que futuramente serão novilhas de reposição, sendo importante ter em conta os riscos desta prática, e a sua influência no crescimento e na saúde dos vitelos.

O objetivo principal deste trabalho foi comparar indicadores de saúde e crescimento em vitelos alimentados com leite de desperdício não tratado e leite de desperdício sujeito a acidificação.

O objetivo secundário deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de leite utilizado na alimentação de vitelos em diversas explorações leiteiras.

6. Materiais e Métodos

6.1. Contagem total de bactérias viáveis em leite utilizado na alimentação de vitelos

6.1.1. Caracterização da amostra e da recolha

Foi feita recolha de amostras do leite usado para alimentação de vitelos em 57 explorações leiteiras. A amostra estudada foi selecionada por conveniência com base nas explorações visitadas durante o estágio curricular e explorações na ilha Terceira (ilha de residência da autora).

A recolha foi feita, preferencialmente, num momento próximo daquele em que o leite era oferecido aos vitelos, consistindo na recolha de uma amostra a partir do recipiente de armazenamento do leite para um recipiente estéril. Cada amostra foi identificada com um número correspondente ao nome da exploração, data da recolha e tipo de leite em questão (leite de tanque, leite de desperdício, leite de desperdício pasteurizado ou leite de desperdício acidificado) (Figura 1), sendo posteriormente submetidas a congelação a -20°C até ao momento do seu processamento.

Figura 1: Recipientes de colheita das amostras identificados por numeração correspondente ao nome da exploração, data de recolha e tipo de leite (fotografia original).



Numa das explorações foram feitas duas colheitas em ocasiões diferentes, tendo em conta dois aspetos: o primeiro é que os animais, cuja produção contribui para o leite de desperdício, não são sempre os mesmos, havendo a possibilidade de a contaminação bacteriana do leite de desperdício variar ao longo do tempo. O outro aspeto é o de que na exploração em causa, após a ordenha da tarde, o leite era imediatamente dado aos vitelos, mas de manhã havia um intervalo de aproximadamente 30 a 60 minutos entre o término da ordenha e a alimentação dos vitelos. Posto isto, foi colhida uma amostra do leite de desperdício de manhã no momento da refeição dos vitelos, e outra amostra à tarde, nas mesmas condições, mas 3 semanas depois da primeira colheita. Nesta mesma exploração foi feita

também recolha do mesmo leite de desperdício, mas após acidificação pelo acidificante mineral Nova Calforce®, de forma a comparar a contaminação bacteriana do leite, antes e depois da acidificação.

6.1.2. Processamento laboratorial

As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, de forma a possibilitar a contagem total de bactérias viáveis em cada uma delas. Cada amostra foi homogeneizada e diluída em soro fisiológico em base 10 (10^{-1} até 10^{-4} , à exceção de duas amostras que foram diluídas até 10^{-5}), num volume final de 1 ml (900 μ l de soro + 100 μ l de amostra) (Figuras 2 e 3). Foram semeados 100 μ l por sementeira em placa à superfície, em meio de cultura Brain Heart Infusion Agar (02-559 e 07-490-500 Scharlau, Espanha) (Figura 5). As placas foram posteriormente incubadas a 37°C durante 48 horas, tempo após o qual foi efetuada a contagem e registo de todas as placas entre 30 e 300 ufc/ml (Figura 4).

Figura 2: Amostras de leite e respetivo soro (900 μ l) para diluição (10^{-1} até 10^{-4}) (fotografia original).



Figura 3: Diluição das amostras (10^{-1} até 10^{-4}) (fotografia original).



Figura 5: Diluições das amostras e respetivas placas de sementeira (fotografia original).

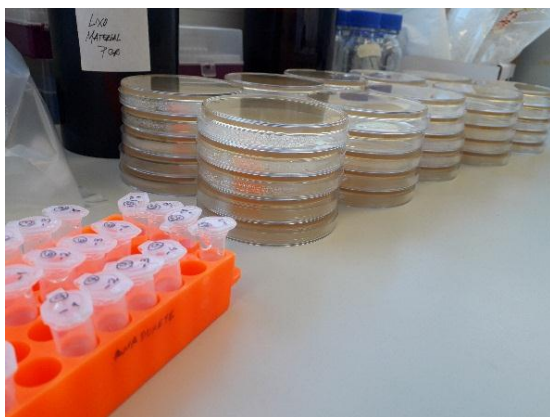
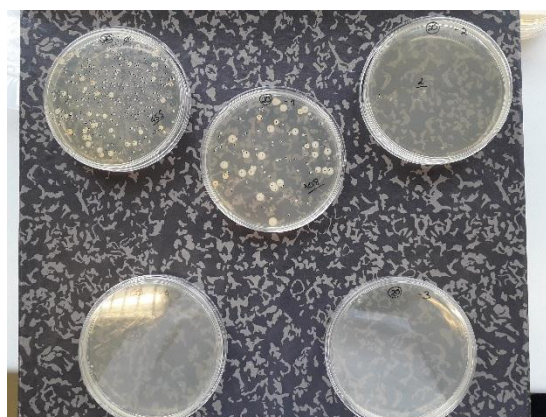


Figura 4: Placas com multiplicação bacteriana e contagens assinaladas (fotografia original).



6.1.3. Análise estatística

Todos os dados recolhidos foram organizados em tabelas com recurso ao software Excel® 2016, que possibilitou o posterior processamento estatístico através do programa R®.

Para comparar as CBT médias entre os diferentes tipos de leite, foi utilizado o teste de análise de variância ANOVA. Em todas as análises de variância foram considerados como valores com significância estatística, aqueles com valor $p < 0,05$.

6.2. Ensaio com acidificante mineral Nova Calforce®

6.2.1. Caracterização da exploração

O ensaio foi realizado numa exploração leiteira na ilha Terceira, na freguesia de Santa Bárbara. A exploração detém um efetivo total de cerca de 400 animais, constituído maioritariamente pela raça Holstein em linha pura e alguns animais resultantes de diferentes graus de cruzamento com a raça Jersey.

O efetivo produtor ronda habitualmente as 180 vacas em lactação, com uma produção média de 8 000 Kg/vaca, média de CCS de 100.000 células/ml, média de CMT de 10.000 microrganismos/ml, média de matéria gorda de 3,7%, e média de proteína de 3,3%.

As vacas são mantidas em dois grupos distintos. Num permanecem em regime de estabulação (Figura 7), até que sejam confirmados os 150-180 dias de gestação, ou até que a sua produção baixe para um limiar de 22 litros/dia. Num segundo grupo, em regime de pastoreio (Figura 6), estão as vacas com mais de 150-180 dias de gestação, vacas de menor produção, ou vacas com mamites e maiores contagens de células somáticas.

Figura 7: Vacas em regime de estabulação
(fotografia original).



Figura 6: Vacas em regime de pastoreio
(fotografia original).



6.2.2. Caracterização do vitleiro

O vitleiro é constituído por um total de 50 boxes suspensas, em ferro galvanizado, com compartimentos individuais com dimensões de 1,20x0,70m, sem adição de cama (Figura 8). É feita uma limpeza diária do chão onde caem os dejetos dos vitelos, e é feita a limpeza das boxes após a saída de cada vitelo, com recurso a pistola de jato.

Cada boxe tem dois baldes, um com água *ad libitum* e outro com concentrado, que é disponibilizado após a primeira semana de vida, também *ad libitum*. Os baldes de alimentação, sem tetina, são lavados com hipoclorito de sódio, em média 1 vez por mês.

Figura 8: Vitelos em boxes individuais suspensas, em ferro galvanizado (fotografia original).



6.2.3. Maneio dos vitelos

Os vitelos são retirados à mãe tão cedo quanto possível após o parto, sendo que em partos assistidos são retirados imediatamente, e em partos que ocorrem sem supervisão, são retirados assim que é dado conta da ocorrência. Não existe maternidade na exploração. As vacas em período pré-parto (1 a 2 semanas antes do parto) são mantidas com o grupo de vacas em produção que se encontra em pastoreio. Posto isto, o nascimento dá-se normalmente na pastagem, ou no parque de espera em caso de parto assistido.

A pessoa responsável pelos vitelos, é uma mulher, dona da exploração, e é sempre ela a tratar dos vitelos. Mesmo quando há assistência (dada também por mulheres, as filhas), a dona da exploração está quase sempre presente.

O colostro é oferecido ao vitelo tão cedo quanto possível, havendo casos em que é administrado minutos após o nascimento. Nos casos em que o parto ocorre durante a noite, sem supervisão, caso não mame na mãe, o vitelo ingere o colostro num prazo que pode atingir um máximo de 9 horas após o nascimento. Nesta exploração não há controlo de qualidade de colostro, e o colostro dado é regra

geral, colostro da própria mãe, exceto em situações em que por algum motivo isso não possa acontecer, sendo nesse caso utilizado colostro congelado. O colostro é oferecido em biberon, sendo que a quantidade ingerida é dependente da ingestão voluntária do vitelo, havendo muita variação, desde 1 litro até 4 litros. Os vitelos ingerem colostro em 2 a 4 refeições, dependendo da quantidade de colostro produzido pela mãe, sendo que depois o vitelo inicia a alimentação de leite de desperdício. Os vitelos são alimentados 2 vezes por dia, por volta das 8h00 e das 18h00. A alimentação consiste em 3 litros de leite de desperdício por vitelo, duas vezes por dia, oferecidos nos primeiros dias de vida com recurso a biberon, e depois com recurso a balde sem tetina. A quantidade de leite é reduzida gradualmente dias antes do desmame, que se dá em média, aos 79 dias de vida.

Após o desmame, os vitelos são colocados num grupo, ao ar livre, onde têm acesso a feno *ad libitum*, e concentrado fornecido 2 vezes por dia.

6.2.4. Maneio do material e do leite de desperdício

O leite de desperdício é proveniente de vacas que foram submetidas a tratamentos antibióticos, mais frequentemente para mamites; de vacas com mamites crónicas, e vacas com CCS elevadas. As vacas cujo leite é recolhido para alimentar os vitelos, são submetidas à mesma rotina de higiene de ordenha que as outras vacas, sendo utilizado o pré-dipping e o pós-dipping.

O leite é recolhido para bilhas (Figura 9) ao longo da ordenha, que dura aproximadamente 3 horas e é dado aos vitelos após o término da mesma.

Figura 9: Bilha de recolha do leite de desperdício (fotografia original).



Figura 10: Percurso desde a ordenha (círculo preto) até ao viteleiro (círculo vermelho) (imagem: Google Earth).



O transporte do leite é feito dentro das bilhas para onde o leite é recolhido, e levado da ordenha para o viteleiro, atravessando o parque de espera (Figura 10). As bilhas que armazenam o leite durante a recolha, e até à altura da alimentação dos vitelos, são lavadas, após cada utilização, com recurso a água fria e um detergente.

Os biberons e os baldes de alimentação são lavados apenas com recurso a água fria após cada refeição, e higienizados com hipoclorito de sódio, uma vez por mês.

6.2.5. Caracterização do ensaio com o acidificante mineral Nova Calforce®

Neste ensaio foram incorporados 45 vitelos, nascidos entre 7 de outubro de 2017 e 1 de janeiro de 2018. Foram feitos dois grupos distintos: um foi alimentado com o leite de desperdício habitual e o outro grupo foi alimentado com o leite de desperdício tratado com o acidificante mineral Nova Calforce® (Novadan, Dinamarca) na concentração de 1,5%, que era conseguida pela adição de 45 ml de Nova Calforce® ao leite de cada um dos vitelos do grupo em questão. A composição completa do produto é conhecida apenas pelo fabricante, havendo somente informação de na sua composição existir sulfato de cálcio dihidratado e sulfato de cálcio anidro, sendo constituído por 1,3% de cálcio. Foi estipulado que, todos os vitelos nascidos a partir da data de início do ensaio, fariam parte deste, e o leite acidificado seria administrado a vitelo sim, vitelo não, de acordo com o momento do nascimento, e entre o nascimento e o desmame.

Foram registados os seguintes indicadores:

1. Data de nascimento;
2. Peso ao nascimento;
3. Sexo;
4. Tipo de parto (Assistido/normal);
5. Nº partos da mãe (Multípara/primípara);
6. Ocorrência de doenças;
7. Terapêutica instituída;
8. Data do desmame;
9. Peso ao desmame.

Os registos foram efetuados pela responsável pelos vitelos e pela autora, tendo sido a maior parte destes feitos pela primeira.

Foram ainda gentilmente cedidos dados referentes às PT séricas de 23 dos vitelos participantes no ensaio, recolhidos pelo colega Luís Cota, no âmbito da realização da sua dissertação de mestrado. As PT foram medidas no soro através de um refratómetro digital entre as 24 horas e os 7 dias de vida, de forma a verificar o sucesso da transferência de imunidade passiva.

O peso ao nascimento foi medido após a ingestão da primeira refeição, de modo a evitar discrepâncias entre vitelos que tivessem mamado nas mães antes de serem retirados e vitelos que eram retirados logo após o nascimento. O peso ao nascimento foi obtido com recurso a uma balança modelo MV302600, da marca ADE, com pesagem máxima de 100 Kg (Figura 11).

Figura 11: Balança de pesagem ao nascimento em processo de pesagem (fotografia original).

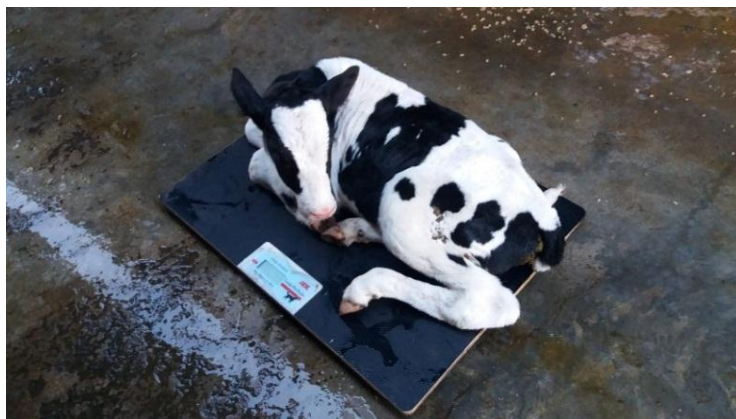


Figura 12: Vitelo em processo de pesagem, ao desmame (fotografia original).



Figura 13: Mostrador da balança utilizada para pesagem após desmame (fotografia original).



A pesagem ao desmame foi feita com recurso a uma balança de barras, modelo PV1/BAT, da marca PAULO, com pesagem mínima de 20 Kg e máxima de 1.500 Kg, através de uma caixa de pesagem construída em madeira (Figuras 12 e 13). O registo do peso dos vitelos após o desmame, assim como a data de desmame, possibilitou o posterior cálculo do ganho médio diário de peso de cada vitelo.

6.2.6. Análise estatística

Todos os dados recolhidos foram organizados em tabelas com recurso ao software Excel® 2016, que possibilitou o posterior processamento estatístico através do programa R®. Em todas as análises de variância foram considerados como valores com significância estatística aqueles com valor $p < 0,05$. Foi avaliada a distribuição das variáveis quantitativas pelo teste Shapiro-Wilk, e quando esta fosse normal foi utilizado para comparação de médias entre grupos o teste t de student. Para distribuições não normais, foi utilizado o teste ANOVA.

Foram ainda utilizadas as tabelas de contingência para identificar as frequências relativas e as percentagens expectáveis.

Foram feitas associações entre os dois grupos de estudo, como a relação de cada grupo com o aparecimento de doenças, com a utilização de terapêutica antibiótica, anti-inflamatória e eletrolítica; e foi estabelecida a relação entre os ganhos médios diários de peso (GMD) e os dois grupos.

De forma complementar foram ainda feitas associações dos valores de PT séricos, de alguns dos vitelos que integraram o ensaio, com o desenvolvimento de doenças e o GMD.

7. Resultados

7.1. Contagem total de bactérias viáveis em leite utilizado na alimentação de vitelos

Foram feitas contagens num total de 61 amostras de leite, provenientes de 57 explorações leiteiras, sendo 7 explorações em Portugal continental (Setúbal, Santarém, Évora e Odemira), visitadas no decorrer do estágio curricular, entre 29 de setembro e 22 de dezembro; e 50 explorações na ilha Terceira (36 no concelho de Angra do Heroísmo e 14 no concelho da Praia da Vitória), efetuadas entre 23 de dezembro e 18 de fevereiro.

A amostra era constituída por: 3 amostras de leite de tanque (LT), 55 amostras de leite de desperdício não tratado (LD), 2 amostras de leite de desperdício acidificado (LDA) e 1 amostra de leite de desperdício pasteurizado (LDP). As 2 amostras de LDA foram colhidas na mesma exploração, mas em ocasiões diferentes, tendo sido colhidas da mesma exploração e nas mesmas ocasiões, 2 amostras do LD antes da acidificação.

Em todas as amostras foi verificada multiplicação bacteriana com possibilidade de contagem nos limites estipulados (30 a 300 ufc/placa).

As contagens obtidas apresentaram uma média de $1,18 \times 10^7$ ufc/mL (5,898 log ufc/mL), mas foram muito variáveis, mostrando haver diferentes níveis de contaminação (Figura 14 e 15), sendo que a menor contagem foi de $1,9 \times 10^3$ ufc/mL (3,280 log ufc/mL), correspondente a leite de tanque, e a maior contagem de $3,7 \times 10^8$ ufc/mL (8,570 log ufc/mL), correspondente a leite de desperdício não tratado (Gráfico 1).

Figura 15: Sementeiras da amostra original e das suas diluições (10^{-1} a 10^{-4}) (da esquerda para a direita), com elevada multiplicação bacteriana (fotografia original).



Figura 14: Sementeiras da amostra original e das suas diluições (10^{-1} a 10^{-4}) (da esquerda para a direita), com reduzida multiplicação bacteriana (fotografia original).

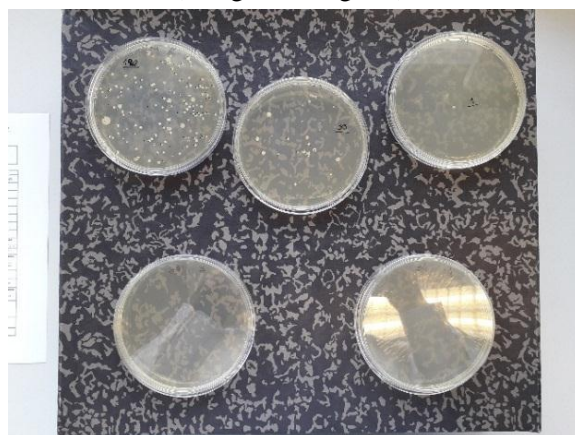
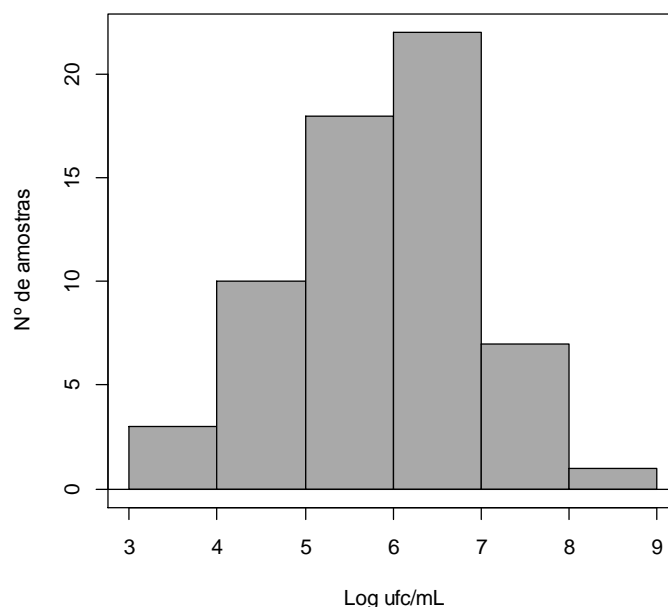


Gráfico 1: Distribuição das contagens totais de bactérias viáveis.



7.1.2. Contagens consoante o tipo de leite

Verificou-se uma variação significativa ($p = 0,00002$) nas CBT entre os diferentes tipos de leite, embora o número de amostras no caso de LT, LDA e LDP, seja muito reduzida.

As contagens em LT variaram entre $1,90 \times 10^3$ ufc/mL (3,280 log ufc/mL), e $9,60 \times 10^3$ ufc/mL (3,980 log ufc/mL); a contagem da única amostra de LDP, foi de $2,28 \times 10^4$ ufc/mL (4,36 log ufc/mL); as contagens das 2 amostras de LDA foram de $1,68 \times 10^4$ (4,23 log ufc/mL), e de $5,49 \times 10^5$ (5,74 log ufc/mL); por fim, as contagens de LD mostraram uma variação muito

acentuada, variando entre $1,45 \times 10^4$ (4,16 log ufc/mL) e $3,70 \times 10^8$ (8,57 log ufc/mL) (Gráfico 2). As contagens médias mais baixas correspondem, pela seguinte ordem, aos leites de tanque, leite de desperdício pasteurizado e leites de desperdício acidificado (Tabela 5 e Gráfico 2).

Gráfico 2: Distribuição e média das CBT viáveis (log ufc/mL) consoante os diferentes tipos de leite (A – LDA; D – LD; P – LDP; T – LT).

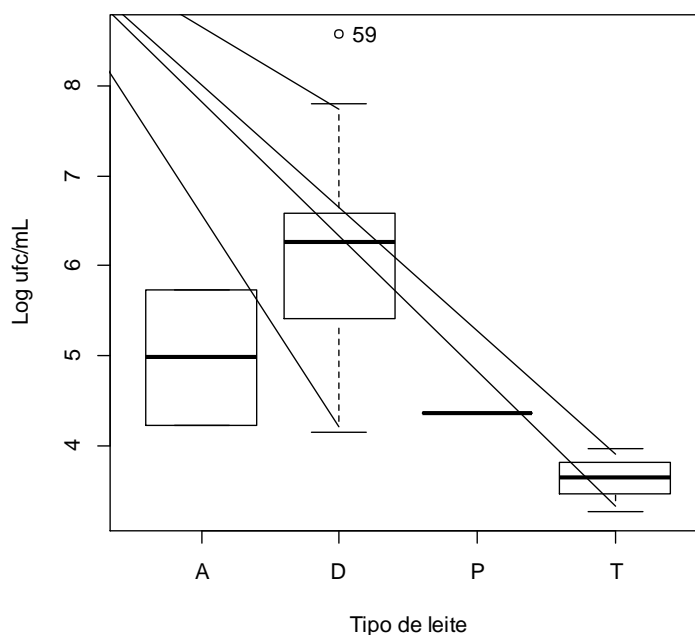


Tabela 5: Média (log ufc/mL) de CBT viáveis de acordo com o tipo de leite.

	Nº de amostras	Média log (ufc/mL)
Leite de tanque	3	3,640
Leite de desperdício	55	6,083
Leite de desperdício acidificado	2	4,985
Leite de desperdício pasteurizado	1	4,360

Relativamente aos leites de desperdício acidificados, a menor contagem resultou da acidificação do leite de desperdício que após a ordenha foi imediatamente fornecido aos vitelos, e que apresentava uma menor CBT inicial ($2,37 \times 10^4$ ufc/mL ou 4,37 log ufc/mL), já a maior contagem resultou da acidificação do leite de desperdício com uma maior CBT inicial ($1,50 \times 10^6$ ufc/mL ou 6,18 log ufc/mL), colhida da mesma exploração mas num dia diferente, e que após a ordenha teve um compasso de espera de 30 a 60 minutos até à alimentação dos vitelos.

A Tabela 6 mostra o número de amostras de cada tipo de leite, e respetiva percentagem, que respeitam o limite máximo de 50.000 ufc/mL. Pode ver-se que neste caso, todas as amostras de LT respeitam esse limite, assim como a amostra de LDP e uma das 2 amostras de LDA, que corresponde à amostra resultante do LD inicial com menor contagem. Das 55 amostras de LD, apenas 5 amostras se encontram abaixo de 50.000 ufc/mL.

Tabela 6: Número e percentagem correspondente de amostras, de cada tipo de leite, que apresentam contagens < 50.000 ufc/mL.

	Nº de amostras	%	Valor de <i>p</i>
Leite de tanque	3	100	0,00002
Leite de desperdício	5	9,1	
Leite de desperdício acidificado	1	50	
Leite de desperdício pasteurizado	1	100	

7.2. Ensaio com acidificante mineral Nova Calforce®

Foi analisado um total de 45 vitelos (43 da raça Holstein e 2 cruzados da raça Jersey), tendo 22 destes vitelos sido alimentados com leite de desperdício tratado com o acidificante mineral Nova Calforce® e os restantes 23, os vitelos controlo, alimentados com leite de desperdício não tratado. Do grupo total

faziam parte 24 fêmeas e 21 machos, cujos nascimentos resultaram de 31 partos normais e 14 partos assistidos, e cujas mães foram 15 primíparas e 30 múltiparas (Tabela 7). Os pesos à nascença variaram entre 28,7 Kg e 55,6 Kg, sendo a média de 39,1 Kg. O desmame mais precoce foi feito ao dia 68 e o mais tardio ao dia 93, sendo a média de dias ao desmame de 79,76 dias. O peso ao desmame variou entre 85 Kg e 136 Kg, com uma média de 103,3 Kg (Tabela 8).

Tabela 7: Distribuição geral do número de vitelos, por sexo, número de partos da mãe e tipo de parto.

Vitelos	Sexo		Mãe		Tipo de parto	
	Fêmea	Macho	Primípara	Múltipara	Normal	Assistido
45	24	21	15	30	31	14

Tabela 8: Variação dos pesos ao nascimento (Kg), pesos ao desmame (Kg) e idade ao desmame (dias).

	Peso ao nascimento (Kg)	Peso ao desmame (Kg)	Idade ao desmame (dias)
Mínimo	28,7	85	68
Média	39,1	103,3	79,76
Máximo	55,6	136	93

Não foram verificadas diferenças entre os pesos ao nascimento nos diferentes grupos de estudo (grupo Nova Calforce® (N) e grupo controlo (C) ($p = 0,705$). A média de idade ao desmame também não apresentou variação significativa entre grupos ($p = 0,5723$). Já o peso ao desmame, apesar dos valores não apresentarem significância estatística ($p = 0,115$) apresentaram uma diferença entre as médias de 5,28 Kg, tendo o grupo N uma média de 105,87 Kg e o grupo C 100,59 Kg. Os valores máximos, médios e mínimos, estão expressos na Tabela 9.

Tabela 9: Valores mínimos, médios e máximos, do peso ao nascimento (Kg), peso ao desmame (Kg) e idade ao desmame (dias) de acordo com os grupos de estudo (N – vitelos Nova Calforce®; C – vitelos controle).

	Peso ao nascimento (Kg)		Peso ao desmame (Kg)		Idade ao desmame (dias)	
	N	C	N	C	N	C
Mínimo	31,9	28,7	88	85	70	68
Média	39,42	38,76	105,87	100,59	79,26	80,27
Máximo	55,6	48,1	136	118	90	93
Valor de <i>p</i>	0,705		0,115		0,5723	

Foi analisada a influência do número de partos da mãe do vitelo (múltipara ou primípara) nos mesmo parâmetros, e neste caso verificou-se que o número de partos influenciou o peso ao nascimento, havendo média de pesos menor nos vitelos filhos de primíparas (35,5 Kg) do que nos filhos de múltiparas (40,9 Kg) ($p = 0,0007$). Nos restantes parâmetros, não mostrou exercer qualquer influência (Tabela 10).

Tabela 10: Valores mínimos, médios e máximos, do peso ao nascimento (Kg), peso ao desmame (Kg) e idade ao desmame (dias), de acordo com o número de partos da mãe (M – múltipara; P – primípara).

	Peso ao nascimento (Kg)		Peso ao desmame (Kg)		Idade ao desmame (dias)	
	M	P	M	P	M	P
Mínimo	30,9	28,7	85	88	68	71
Média	40,9	35,5	104,1	101,6	79,3	80,7
Máximo	55,6	45,6	136	117	90	93
Valor de <i>p</i>	0,0007		0,4334		0,4742	

7.2.1. Morbilidade e terapêutica

Dos 45 vitelos, 21 desenvolveram algum tipo de doença (46,7%), dos quais, 5 desenvolveram mais do que uma doença (11%). Não foi registada qualquer morte.

Foi registado um total de 26 casos de doença, sendo a diarreia a mais comum (80,8%), seguida de doença respiratória (11,5%), artrite (3,8%), e otite (3,8%). Verificou-se diarreia em 19 vitelos (42,2%), sendo que 2 destes tiveram dois episódios da afeição; doença respiratória em 3 vitelos (6,7%),

sendo que 2 destes tinham sido acometidos por diarreia anteriormente; artrite em 1 vitelo (2,2%); e otite também em 1 vitelo (2,2%), tendo este sido anteriormente acometido por diarreia e doença respiratória (Tabela 11). De entre os vitelos acometidos por alguma doença, foram submetidos a tratamento: antibiótico, 14 vitelos; anti-inflamatório, 5 vitelos; e eletrolítico, 4 vitelos (Tabela 11).

7.2.1.1. Morbidade e terapêutica nos diferentes grupos de estudo

Dos 21 vitelos doentes, 10 deles (47,6%) pertenciam ao grupo Nova Calforce® e os 11 restantes (52,4%) ao grupo de controlo, não tendo sido verificada nenhuma relação entre os grupos e o aparecimento de doenças ($p = 0,6611$).

Não se verificou relação entre a ocorrência de diarreia ou doença respiratória e o grupo ($p = 0,6677$ e $0,5237$, respetivamente). A ocorrência de outras doenças (artrite e otite), só se deu no grupo controlo, mas não são valores estatisticamente representativos ($p = 0,1391$). Também o uso de terapêutica, seja antibiótica, anti-inflamatória ou eletrolítica, não mostrou qualquer associação ao grupo ($p = 0,4567$; $p = 0,5981$; $p = 0,2737$; respetivamente). Já a ocorrência de mais de uma afeção ou a necessidade de repetição do tratamento, mostrou-se relacionada com grupo, sendo que as cinco ocorrências registadas dizem respeito apenas ao grupo de controlo ($p = 0,0153$) (Tabela 11).

Tabela 11. Morbidade e terapêutica instituída de acordo com os grupos de estudo.

	Nova Calforce		Controlo		Total		Valor p
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Ocorrência de diarreia	9	39,1	10	45,5	19	42,2	0,6677
Ocorrência de doença respiratória	1	4,3	2	9,1	3	6,7	0,5237
Outras doenças	0	0	2	9,1	2	4,4	0,1391
Uso de antibióticos	6	26,1	8	36,4	14	31,1	0,4567
Uso de anti-inflamatórios	2	8,7	3	13,6	5	11,1	0,5981
Uso de eletrólitos	1	4,3	3	13,6	4	8,9	0,2737
Ocorrência de mais de uma afeção e/ou necessidade de repetir terapêutica	0	0	5	22,7	5	11,1	0,0153
Total	23	51,1	22	48,9	45	100	

7.2.1.2. Morbidade e terapêutica de acordo com o número de partos da mãe e o tipo de parto

Não se verificou relação entre a ocorrência de qualquer doença nos vitelos ou a instituição de qualquer terapêutica e o número de partos da mãe (múltipara/primípara) (Tabela 12). A mesma ausência de relação foi vista ao comparar os mesmos parâmetros com o tipo de parto (assistido/normal) (Tabela 13).

Tabela 12: Morbidade e terapêutica instituída de acordo com o número de partos das mães.

	Múltipara		Primípara		Valor <i>p</i>
	Nº	%	Nº	%	
Ocorrência de diarreia	14	46,7	5	33,3	0,3933
Ocorrência de doença respiratória	2	6,7	1	6,7	1
Outras doenças	2	6,7	0	0	0,3063
Uso de antibióticos	9	30,0	5	33,3	0,8199
Uso de anti-inflamatórios	5	16,7	0	0	0,0935
Uso de eletrólitos	4	13,3	0	0	0,1384
Ocorrência de mais de uma afeção e/ou necessidade de repetir terapêutica	5	16,7	0	0	0,0935
Total	30	66,7	15	33,3	

Tabela 13: Morbidade e terapêutica instituída de acordo com o tipo de parto.

	Normal		Assistido		Valor <i>p</i>
	Nº	%	Nº	%	
Ocorrência de diarreia	14	45,2	5	35,7	0,5525
Ocorrência de doença respiratória	1	3,2	2	14,3	0,1685
Outras doenças	1	3,2	1	7,1	0,555
Uso de antibióticos	10	32,3	4	28,6	0,8047
Uso de anti-inflamatórios	3	9,7	2	14,3	0,6488
Uso de eletrólitos	4	12,9	0	0	0,1591
Ocorrência de mais de uma afeção e/ou necessidade de repetir terapêutica	3	9,7	2	14,3	0,6488
Total	31	68,9	14	31,1	

7.2.1.3. Morbidade de acordo com o sexo do vitelo

Não se verificou relação entre a ocorrência de qualquer doença e o sexo do vitelo ($p < 0,05$) (Tabela 14).

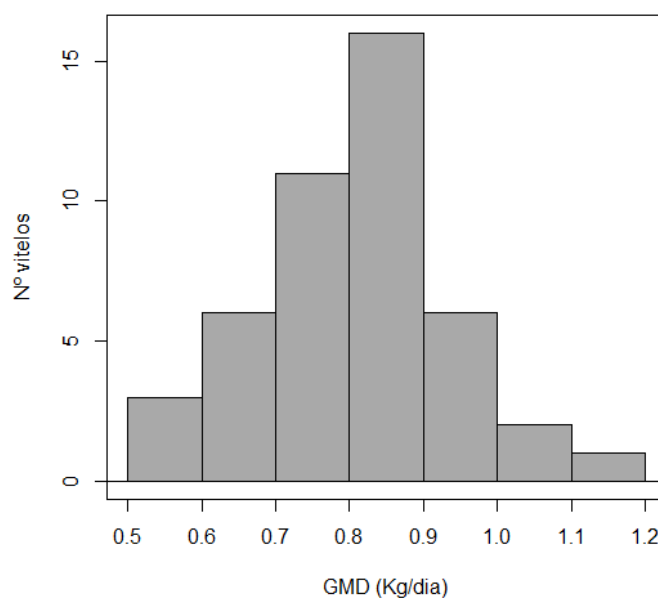
Tabela 14: Morbidade de acordo com o sexo do vitelo

	Macho		Fêmea		Valor p
	Nº	%	Nº	%	
Ocorrência de diarreia	9	42,9	10	41,7	0,9357
Ocorrência de doença respiratória	0	0	3	12,5	0,0935
Outras doenças	0	0	2	8,3	0,176
Total	21	46,7	24	53,3	

7.2.2. Ganhos médios diários de peso

O ganho médio diário de peso (GMD) foi calculado em Kg/dia, correspondendo a uma média geral de 0,8076 Kg/dia, e apresentando uma grande variação, sendo o GMD mais baixo de 0,535 Kg/dia e o mais alto de 1,150 Kg/dia (Gráfico 3).

Gráfico 3: Distribuição dos GMD (Kg/dia).



7.2.2.1. GMD de acordo com os grupos em estudo

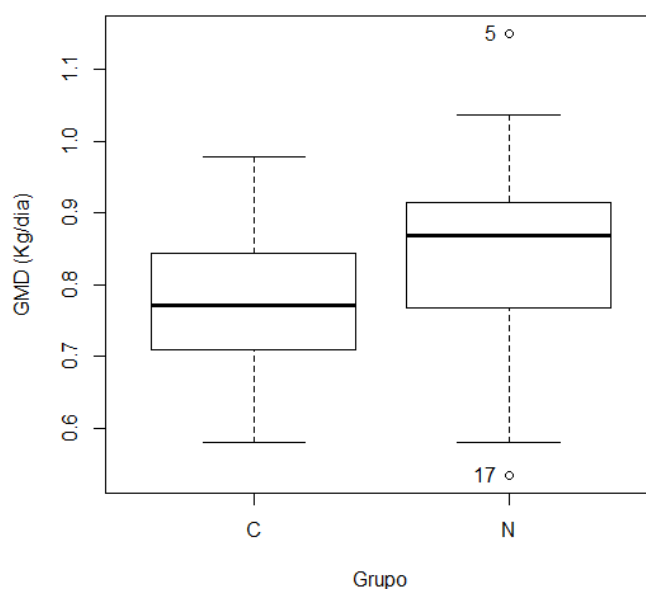
Foi verificada uma diferença no GMD de 71,5 g/dia na média dos dois grupos em estudo, grupo Nova Calforce® e grupo controlo (média de 0,8426 e 0,7711, respetivamente). Apesar da diferença, os valores não apresentaram significância estatística ($p = 0,06095$) (Tabela 15 e Gráfico 4).

Tabela 15: Distribuição dos GMD (Kg/dia) nos dois grupos de estudo.

Grupo	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
N	0,8426	0,1437	0,1464	0,5349	0,7683	0,8687	0,9147	1,1500	23
C	0,7711	0,1024	0,1299	0,5809	0,7115	0,7710	0,8414	0,9779	22

$p = 0,06095$

Gráfico 4: Distribuição comparativa do GMD (Kg/dia) entre os dois grupos de estudo.



7.2.2.2. GMD de acordo com o número de partos da mãe e o tipo de parto

Neste estudo não se verificou qualquer relação entre o número de partos da mãe (primípara/múltipara) e o GMD dos vitelos ($p = 0,5872$) (Tabela 16). Também não foi observada qualquer relação entre o tipo de parto (assistido/normal) e o GMD ($p = 0,9524$) (Tabela 17).

Tabela 16: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com o número de partos da mãe (M – múltipara; P – primípara).

Mãe	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
M	0,8002	0,1321	0,1796	0,5349	0,7115	0,8136	0,8911	1,1500	30
P	0,8224	0,1257	0,1522	0,5805	0,7477	0,8309	0,8999	1,0376	15

$p = 0,5872$

Tabela 17: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com o tipo de parto (A – assistido; N – normal).

Parto	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
A	0,8097	0,1708	0,2256	0,5349	0,6827	0,7821	0,9083	1,1500	14
N	0,8067	0,1085	0,1638	0,5805	0,7254	0,8187	0,8892	1,0214	31

$p = 0,9524$

7.2.2.3. GMD de acordo com o sexo

Foi verificado um maior GMD nos vitelos do sexo masculino (média de 0,8351 Kg/dia) do que do sexo feminino (média de 0,7835 Kg/dia), contudo os valores não apresentam significância estatística ($p = 0,1854$) (Tabela 18).

Tabela 18: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com o sexo do vitelo (F – feminino; M – masculino).

Sexo	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
F	0,7835	0,1254	0,1888	0,5805	0,6948	0,7683	0,8837	1,0377	24
M	0,8351	0,1305	0,0982	0,5349	0,7951	0,8449	0,8933	1,1500	21

$p = 0,1854$

7.2.2.4. GMD de acordo com as doenças sofridas

Apesar de se ter verificado que os vitelos acometidos por alguma doença, apresentaram menor média de GMD (0,7750 Kg/dia) quando comparados com os vitelos que nunca apresentaram sinais clínicos detetados pela tratadora (0,8361 Kg/dia), estes valores também não apresentaram significância estatística ($p = 0,1142$) (Tabela 19).

Tabela 19: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de alguma doença (S – vitelo acometido por alguma doença; N – vitelo não acometido por sinais clínicos detectáveis pela tratadora).

Doença	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
S	0,7750	0,1268	0,1109	0,5349	0,7096	0,7690	0,8205	1,0377	21
N	0,8361	0,1267	0,1741	0,5809	0,7279	0,8622	0,9020	1,1500	24

$p = 0,1142$

Relativamente aos vitelos acometidos especificamente com diarreia, doença respiratória ou outras afeções (artrite e otite), quando comparados com os restantes vitelos, nenhum dos casos apresentou diferenças significativas nos GMD, apesar de em todos os casos, os vitelos acometidos com cada uma das afeções apresentarem médias de GMD mais baixas, sendo elas de: 0,7768 Kg/dia para a diarreia, 0,6835 Kg/dia para a pneumonia e 0,7079 Kg/dia para outras doenças (Tabela 20, 21 e 22 respetivamente), enquanto vitelos que não foram afetados por qualquer doença apresentaram médias de GMD de 0,8361 Kg/dia (Tabela 19), sendo de notar que os vitelos acometidos com doença respiratória foram os que apresentaram a média de GMD mais baixa (0,6835 Kg/dia).

Tabela 20: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de diarreia (S – vitelos afetados por diarreia; N – vitelos não afetados por diarreia).

Diarreia	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
S	0,7768	0,1335	0,1354	0,5349	0,6998	0,7951	0,8353	1,0377	19
N	0,8301	0,1234	0,1637	0,5809	0,7327	0,8503	0,8964	1,1500	26

$p = 0,1804$

Tabela 21: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de doença respiratória (S – vitelos afetados por pneumonia; N – vitelos não afetados por pneumonia).

D. Resp.	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
S	0,6835	0,0792	0,0782	0,6127	0,6408	0,6689	0,7190	0,7690	3
N	0,8165	0,1279	0,1683	0,5349	0,7249	0,8196	0,8933	1,1500	42

$p = 0,0812$

Tabela 22: Distribuição do GMD (Kg/dia) de acordo com a ocorrência de outras doenças (S – vitelos afetados por outras doenças; N – vitelos não afetados por outras doenças).

Outras	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
S	0,7079	0,0551	0,0390	0,6689	0,6884	0,7079	0,7274	0,7469	2
N	0,8123	0,1299	0,1698	0,5349	0,7234	0,8187	0,8932	1,1500	43

$p = 0,1723$

7.2.2.5. GMD dos vitelos doentes e não doentes, de acordo com o grupo de estudo

Não foi observada relação significativa entre os GMD dos vitelos doentes e não doentes tendo em conta o grupo de estudo em que se inseriram. Pode ver-se que houve uma média de GMD superior no grupo Nova Calforce®, quer nos vitelos que desenvolveram doença (Tabela 23), quer nos que não desenvolveram doença, sendo maior nestes últimos. Nestes, o maior GMD corresponde a um aumento de 87,9 gramas diárias nos vitelos que não desenvolveram doença e foram alimentados com leite de desperdício acidificado (Tabela 24). Contudo, os valores não se mostraram significativos ($p > 0,05$).

Tabela 23: Distribuição do GMD (Kg/dia) dos vitelos que desenvolveram doença, de acordo com o grupo de estudo (N - Nova Calforce®; C - controlo).

C/ doença	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
N	0,7986	0,1651	0,1557	0,5349	0,7340	0,7939	0,8896	1,0377	10
C	0,7536	0,0810	0,1099	0,6127	0,6998	0,7469	0,8098	0,8734	11

$p = 0,8413$

Tabela 24: Distribuição do GMD (Kg/dia) dos vitelos que não desenvolveram sinais clínicos detetáveis pela tratadora, de acordo com o grupo de estudo (N - Nova Calforce®; C - controlo).

S/ doença	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
N	0,8764	0,1207	0,0609	0,6575	0,8557	0,8854	0,9167	1,1500	13
C	0,7885	0,1217	0,1487	0,5809	0,7225	0,8155	0,8712	0,9779	11

$p = 0,3233$

7.2.3. Transferência da imunidade passiva

Só existem dados das PT séricas referentes a 23 dos vitelos pertencentes ao ensaio. Dessa amostra fazem parte alguns dos vitelos nascidos entre 15 de outubro e 12 de dezembro de 2017. Foi considerado o valor de 5,5 g/dL para valor *cut-off* de PT séricas, tendo sido assumido valores de PT $\geq 5,5$ g/dL, como indicadores de uma boa transferência de imunidade passiva. Os valores obtidos mostraram uma FTIP na ordem dos 26,1%.

7.2.3.1. Morbidade de acordo com a transferência de imunidade passiva

Foi verificada relação entre a morbilidade e a FTIP, relativamente à ocorrência de diarreia. A doença verificou-se em 66,7% dos vitelos que apresentaram PT $< 5,5$ g/dL, e apenas em 5,9% dos vitelos com uma boa transferência de imunidade passiva ($p = 0,0019$) (Tabela 25).

Relativamente à ocorrência de doença respiratória e de outras doenças, não foi verificada relação significativa entre os dois grupos ($p > 0,05$) (Tabela 25).

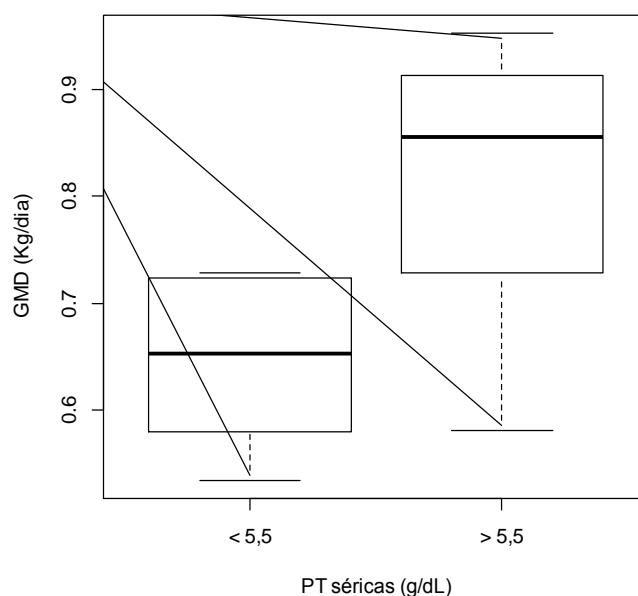
Tabela 25: Morbilidade de acordo com o sucesso da transferência de imunidade passiva.

	PT $\geq 5,5$ g/dL		PT $< 5,5$ g/dL		Valor p
	Nº	%	Nº	%	
Ocorrência de diarreia	1	5,9	4	66,7	0,0019
Ocorrência de doença respiratória	1	5,9	2	16,7	0,4202
Outras doenças	0	0	1	16,7	0,0852
Total	17	73,9	6	26,1	

7.2.3.2. GMD de acordo com a transferência de imunidade passiva

O GMD mostrou-se significativamente relacionado com a FTIP ($p = 0,0011$). Verificou-se uma média de GMD consideravelmente superior (0,8193 Kg/dia) nos vitelos com uma boa transferência de imunidade passiva (PT $\geq 5,5$ g/dL), quando comparados com aqueles com FTIP (0,6456 Kg/dia) (Gráfico 5).

Gráfico 5: Distribuição dos GMD (Kg/dia) de acordo com o sucesso da transferência de imunidade passiva ($p = 0,0011$).



Foi verificado que o GMD era tanto maior quanto maior a concentração de PT séricas, verificando-se médias de GMD de 0,6456 Kg/dia, 0,8004 Kg/dia e 0,9078 Kg/dia, para concentrações de PT < 5,5 g/dL, [5,5; 6,5] g/dL e > 6,5 g/dL, respetivamente (Tabela 26).

Tabela 26: Distribuição dos GMD (Kg/dia) de acordo com a concentração de PT sérica.

PT (g/dL)	Média	σ	IQR	0%	25%	50%	75%	100%	Nº
>6,5	0,9078	0,0486	0,0481	0,8557	0,8857	0,9157	0,9338	0,9520	3
[5,5; 6,5]	0,8004	0,1160	0,1708	0,5809	0,7198	0,8171	0,8906	0,9454	14
< 5,5	0,6456	0,0775	0,1155	0,5349	0,5946	0,6530	0,7102	0,7280	6

$p = 0,0108$

8. Discussão

8.1. Qualidade microbiológica de leite utilizado na alimentação de vitelos

As amostras apresentaram uma média de contagem total de bactérias viáveis de $1,18 \times 10^7$ ufc/mL (5,898 log ufc/mL), valor muito superior ao máximo indicado como leite de qualidade para a alimentação de vitelos, levando a pensar de que de uma maneira geral, o leite utilizado na alimentação dos vitelos apresenta baixa qualidade microbiológica, o que pode influenciar negativamente a sua saúde e crescimento, uma vez que a ingestão de leite contaminado com agentes patogênicos pelos vitelos, pode aumentar a morbidade e mortalidade (McGuirk, 2003).

Os valores obtidos foram muito variáveis, mostrando haver diferentes níveis de contaminação, sendo que a menor contagem foi de $1,9 \times 10^3$ ufc/mL (3,280 log ufc/mL), correspondente a leite de tanque, e a maior contagem de $3,7 \times 10^8$ ufc/mL (8,570 log ufc/mL), correspondente a leite de desperdício não tratado. Também Elizondo-Salazar *et al.* (2010) verificou valores de CBT em leite de desperdício que variaram entre 6×10^3 ufc/mL, e mais de $7,2 \times 10^7$ ufc/mL.

Reynolds (2002) afirma haver uma grande variação na contaminação entre leites, enquanto que leite inteiro de alta qualidade apresenta contagens inferiores a 50.000 ufc/ml, alguns leites de desperdício podem atingir contagens superiores a 1.000.000 ufc/ml (citado por Godden *et al.*, 2003a). Já McGuirk (2003) aponta para contagens ideais de bactérias totais, um valor inferior a 10.000 ufc/mL.

O tipo de leite (LT, LDP, LDA e LD) mostrou estar relacionado com a qualidade microbiológica, tendo sido as médias de LT, LDP e LDA significativamente mais baixas. Das amostras analisadas, apenas 3 (4,9%) respeitaram o limite sugerido por McGuirk (2003), correspondendo estas às amostras de LT. Ao subir o limite máximo para o valor referido por Reynolds (2002), verificou-se 10 amostras (16,39%) respeitantes, estando nelas incluídas naturalmente todas as amostras de LT, a amostra de LDP, a amostra de LDA resultante do LD com menor contagem inicial, e apenas 5 das 55 amostras de LD ($p = 0,00002$). As amostras de LD apresentaram contagens com uma variação extremamente acentuada, sendo que das 55 amostras, apenas 5 (9,1%) apresentaram valores inferiores a 50.000 ufc/mL, e 29 (52,7%) apresentaram valores superiores a 1.000.000 ufc/mL. Também no estudo de Aust *et al.* (2013), este verificou que mesmo dentro de uma exploração ocorriam variações muito acentuadas na carga bacteriana do leite de desperdício, o que foi também possível verificar neste estudo, através das duas amostras colhidas na mesma exploração em ocasiões diferentes, sendo que uma delas apresentou valores inferiores a 50.000 ufc/mL ($2,37 \times 10^4$ ufc/mL) e a outra apresentou valores superiores a 1.000.000 ufc/mL ($1,5 \times 10^6$ ufc/mL). Esta situação pode ser explicada pelo fato de nesta exploração o leite de desperdício não provir constantemente dos mesmos animais, variando a sua qualidade em função do aparecimento de mamites nas vacas, e consequente uso desse leite para alimentação dos vitelos; a contaminação ambiental também pode variar, tendo em conta acidentes

que possam acontecer durante a ordenha, transporte, ou através dos utensílios de alimentação dos vitelos mal higienizados. Outro aspeto é a duração do compasso de espera entre o término da ordenha e a alimentação dos vitelos, uma vez que a multiplicação bacteriana continua (Elizondo-Salazar *et al.*, 2010), situação que se verificou na amostra com maior concentração bacteriana, uma vez que era resultante da ordenha da manhã, em que há um compasso de espera de 30 a 60 min entre o término da ordenha e a alimentação dos vitelos, sem recorrer a refrigeração, permanecendo o leite à temperatura ambiente. Também em nenhuma das restantes explorações era feita refrigeração do leite até ao momento da alimentação dos vitelos. Posto isto, essa também poderá ter sido uma das razões pela qual algumas amostras revelaram uma qualidade microbiológica tão baixa.

As amostras de leite de LDA analisadas coincidiram com o LDA com recurso ao produto acidificante Nova Calforce® utilizado no ensaio do segundo momento desta dissertação, por esta razão os resultados vão ser analisados com mais detalhe. Após a acidificação do LD, pôde verificar-se que a diminuição da concentração bacteriana não foi tão acentuada como em ensaios anteriores para o mesmo produto. Carneiro e Bexiga, utilizaram o mesmo produto na concentração de 1% numa amostra de leite com uma concentração bacteriana inicial de $1,04 \times 10^7$ ufc/mL, obtendo concentrações de $3,11 \times 10^5$ ufc/mL, 30 minutos depois da mistura do acidificante. Mas ao testarem a mesma concentração utilizada no ensaio realizado no segundo momento deste trabalho (1,5%), a concentração bacteriana ao fim de 30 minutos foi de zero (comunicação pessoal, julho, 2017). Neste estudo a diminuição que se verificou foi de $2,37 \times 10^4$ para $1,68 \times 10^4$ e de $1,50 \times 10^6$ para $5,49 \times 10^5$, em ambos os casos inferior a 1 log. É de considerar que a amostra de LD antes da acidificação foi retirada diretamente da bilha de recolha do leite, enquanto a amostra do LDA foi recolhida do balde de alimentação, uma vez que para proceder à acidificação, o LD era primeiro passado para os baldes de alimentação, e só depois era feita a mistura do acidificante. Desta forma a concentração bacteriana inicial poderá ter sido superior à registada, por meio da muito provável contaminação acrescida feita pelo balde de alimentação, uma vez que está descrito o aumento da contaminação bacteriana devido a material de alimentação mal higienizado (McGuirk, 2003). Outra questão que permanece é a ação do produto durante a refrigeração e congelação, uma vez que a amostra foi colocada no congelador pouco minutos após a colheita, não estando esclarecida a ação do acidificante nestas circunstâncias.

8.1.1. Limitações e sugestões

Os resultados deste estudo têm limitações, uma vez que a amostra não foi aleatória. As amostras recolhidas em Portugal continental foram apenas de explorações leiteiras visitadas durante o estágio curricular. Todas as outras amostras foram recolhidas na ilha Terceira, também por uma questão de

conveniência, uma vez que é a ilha de residência da autora. Outra limitação é o facto de apenas haver uma amostra de LDP e duas amostras de LDA.

Seria pertinente futuramente desenvolver o estudo com uma amostra de maior dimensão, feita de forma aleatória e com registos de como decorrem todas as etapas do manejo do leite, desde a recolha até à alimentação dos vitelos, com possibilidade de recolha de amostras em tempos diferentes (ex: após ordenha e imediatamente antes da alimentação dos vitelos). Assim seria possível identificar qual ou quais os fatores que contribuem para a má qualidade microbiológica do leite dados aos vitelos, permitindo também estudar soluções acessíveis aos produtores.

8.2. Ensaio com acidificante mineral Nova Calforce®

8.2.1. Aceitação do leite acidificado pelos vitelos

Os vitelos revelaram uma boa aceitação do LDA, não tendo sido notada diferença na apetência em relação ao LD.

Foi notada a formação de coalho no LDA, derivada da acidificação, situação mais exuberante em ocasiões em que o leite estava muito quente. A acidificação de leite quente leva à formação irreversível de coalho (Anderson, 2008). O produto resultante da acidificação é facilmente aceite pelos vitelos, mas com o inconveniente de o pH baixo (~4,5) provocar alterações na estrutura da proteína do leite, o que pode resultar em coagulação proteica e formação de coalho (Godden *et al.* 2003a).

8.2.2. Incidência de doenças

No estudo comparativo de Zou *et al.* (2017), vitelos que eram alimentados com LDA apresentaram menor incidência de diarreias do que os vitelos alimentados com LD. Tal não se verificou neste ensaio, quer para diarreia ($p = 0,6677$), quer para doença respiratória ($p = 0,5237$). Contudo, é de notar que apenas no grupo de controlo houve vitelos a repetir afeções, ou a necessitar de mais do que um tratamento, verificando-se assim uma melhor performance dos vitelos alimentados com o leite tratado com o acidificante Nova Calforce® ($p = 0,0153$).

Foi verificada uma incidência de doenças total na ordem dos 46,7%, valor que respeita o intervalo de 0 a 57,6% de incidências verificadas em diferentes explorações por Lundborg *et al.* (2005), mas representa um valor bastante elevado quando comparado com a média de 21,6%, observada pelo mesmo autor.

A diarreia foi a principal afeção verificada, sendo responsável por 80,8% das doenças registadas, seguindo-se a doença respiratória, responsável por 11,5%. Estes registos estão de acordo com

Svensson *et al.* (2006) que diz ser a diarreia e a doença respiratória as principais doenças a afetar os vitelos.

A diarreia apresentou uma incidência de 42,2%, bastante superior aos valores relatados de 21,3% e 23%, por Windeyer *et al.* (2014) e Medrano-Galarza *et al.* (2017), respetivamente. Medrano-Galarza *et al.* (2017) verificou que contagens de bactérias totais no leite superiores a 100.000 ufc/mL resultaram numa maior prevalência de diarreia em vitelos. Foram feitas duas contagens das bactérias viáveis presentes no leite dado aos vitelos em causa, e foi observado uma variação muito acentuada, sendo que na primeira o valor era inferior ao apontado por Medrano-Galarza *et al.* (2017) como fator predisponente ao aparecimento de diarreia, e na segunda era superior. É por isso possível que a contaminação bacteriana do leite, tenha contribuído para uma incidência de diarreias tão alta.

Este ensaio decorreu durante o outono e o inverno, quando as temperaturas são mais baixas, e Gulliksen *et al.* (2009a) verificou uma maior prevalência de diarreia em vitelos nascidos no inverno. Al Mawly *et al.* (2015) constatou também que vitelos exposto a temperaturas baixas apresentam maiores incidências de diarreia do que vitelos alojados em ambientes fechados e com boa cama. Ora neste estudo, os vitelos apesar de protegidos pela estrutura do vitleiro, não estavam num ambiente completamente fechado, estando expostos à temperatura exterior. Os vitelos em questão também não tinham cama, estando deitados sobre ferro galvanizado, com circulação de corrente de ar por baixo, dificultando o aquecimento em situações de temperatura baixa.

Al Mawly *et al.* (2015) verificou também que vitelos filhos de mães não vacinadas apresentam maior incidência de diarreia, ao contrário de vitelos filhos de mães vacinadas contra rotavírus, coronavírus e *E. coli*. Os vitelos envolvidos neste estudo são filhos de mães não vacinadas para os referidos agentes, o que pode também ter influenciado negativamente a incidência de diarreia. Outra justificação pode residir no facto de não serem feitos vazios sanitários do vitleiro, nem vazios suficientemente longos entre cada ocupante de uma boxe, chegando a haver intervalos de tempo de apenas alguns dias. Também não é feita desinfecção, sendo a limpeza da boxe feita apenas recorrendo a água em pistola de jato. Está descrito que má desinfecção e vazio sanitário reduzido representam fatores de risco para aumento da morbilidade (McGuirk, 2003).

Teixeira *et al.* (2013) constatou que vitelos com menor peso ao nascimento, demonstraram ser mais suscetíveis à diarreia, assim como os filhos de primíparas (Lombard *et al.*, 2007). Neste estudo os filhos de primíparas apresentaram menores pesos médios ao nascimento (35,5 Kg vs. 40,9 Kg; $p = 0,0007$) mas não apresentaram maior incidência de diarreia quando comparados com os filhos de múltíparas ($p = 0,3933$).

Também não foi verificada relação entre a ocorrência de diarreia e a existência de assistência ao parto, ao contrário do verificado por Teixeira *et al.* (2013) e Lombard *et al.* (2007); ou com o sexo do vitelo,

ao contrário do observado por Al Mawly *et al.* (2015), que verificou maior incidência de diarreias em machos que do que em fêmeas.

Apesar dos dados existentes relativos à transferência de imunidade passiva não serem de todos os vitelos envolvidos no ensaio, foi possível estabelecer uma relação entre o sucesso ou FTIP e a ocorrência de diarreia. A falha na transferência da imunidade passiva (FTIP) pode ser representada por uma concentração de PT séricas inferior a 5,5 g/dL (Buczinski *et al.*, 2018), das 24 horas aos 7 dias de vida (Constable *et al.* 2017). Desta forma foi verificada que as duas variáveis estavam intimamente relacionadas ($p = 0,0019$), tendo os vitelos com FTIP (PT < 5,5 g/dL) apresentado incidências de diarreia muito superiores (66,7%) aos vitelos cuja transferência de imunidade passiva foi conseguida com sucesso (5,9%). À semelhança da maioria dos estudos recentes, os resultados obtidos neste estudo não estão de acordo com Sivula *et al.* (1996), que não verificou diferenças na morbidade e mortalidade de vitelos com uma boa transferência de imunidade passiva e vitelos com falha de transferência de imunidade passiva.

Pôde apurar-se um valor de 26,1% de FTIP no grupo de 23 vitelos avaliados. Esta situação era expectável, tendo em conta que nesta exploração não é feito controlo de qualidade de colostro, a quantidade de colostro ingerida depende da ingestão voluntária do vitelo, e podem ocorrer intervalos de tempo entre o nascimento e a ingestão de colostro superiores a 8 horas. Não obstante, o valor encontrado mostrou-se inferior à média de 38% verificada por Vogels *et al.* (2013) ao analisar 1.108 vitelos em 100 explorações diferentes, e à média de 32% encontrada por Windeyer *et al.* (2014).

A FTIP está associada a maior morbidade (Constable *et al.*, 2017), e a maior incidência de diarreia (Al Mawly *et al.*, 2015). Desta forma, a existência de FTIP possivelmente influenciou negativamente a saúde dos vitelos, o que pode eventualmente ter mascarado os efeitos positivos da acidificação do leite na prevenção de doenças.

Svensson *et al.* (2003) verificou também uma maior incidência de diarreia em vitelos que ingeriram o colostro diretamente da mãe, em comparação com os que ingeriram por administração manual, e há a possibilidade de tal ocorrência se ter dado, apesar de não haver registos.

Relativamente à doença respiratória, os valores foram inferiores aos registados em estudos prévios, havendo uma incidência de 6,7%, valor inferior aos 14% registados em vitelos até a desmame por Lago *et al.* (2006) ou aos 17% registados por Medrano-Galarza *et al.* (2017). Tal pode dever-se ao fato de estarem alojados individualmente, havendo menos contacto entre vitelos, uma vez que segundo Lundborg *et al.* (2005), vitelos alojados em boxes individuais ou pequenos grupos têm menor incidência de doença respiratória do que vitelos alojados em grupos de 6 a 30 animais. Contudo, é referido também que a incidência de doença respiratória é maior no inverno (Svensson *et al.*, 2006),

mas apesar de grande parte do estudo ter decorrido nessa estação, a incidência de doença respiratória foi baixa, comparativamente a valores descritos em estudos anteriores.

Neste estudo, 2 dos 3 casos de doença respiratória surgiram em vitelos que tinham sido acometidos anteriormente por um episódio de diarreia, achado que vai de encontro ao verificado por Gulliksen *et al.* (2009b) e Klein-Jöbstl *et al.* (2014), que associaram o aparecimento de doença respiratória a um episódio prévio de diarreia. Esta associação poderá ser explicada por uma possível falta de higiene e falha imunitária do vitelo, que o predispõe para doenças multifatoriais. Além disso qualquer doença pode afetar negativamente a performance dos vitelos e consequentemente predispô-los a outras doenças (Klein-Jöbstl *et al.*, 2014). Outra justificação poderá residir na possibilidade de existência de agentes como coronavírus na exploração, que tenham tropismo tanto para o intestino como para o aparelho respiratório (Autio *et al.*, 2007).

Também nesta afeção não foi verificada relação entre a sua ocorrência e a ingestão de leite acidificado com o produto Nova Calforce® ($p > 0,05$), tal poderá dever-se ao pequeno número de ocorrências e à pequena dimensão da amostra. Relativamente a outras doenças, nomeadamente a otite e artrite, só ocorreram no grupo de vitelos controlo, mas os valores não apresentam significância estatística.

Não foi verificada relação entre o número de partos da mãe e o desenvolvimento da doença, ao contrário do verificado por Lombard *et al.* (2007), que verificou que vitelos filhos de múltíparas apresentavam mais propensão para o desenvolvimento de doença respiratória

A FTIP também não influenciou a ocorrência de doença respiratória ou de outras doenças. Tal pode dever-se também ao reduzido número de ocorrências e vitelos analisados, uma vez que Gulliksen *et al.* (2009b) verificou que o atraso na ingestão de colostro levava a uma maior incidência de doença respiratória.

Durante a realização do ensaio não foi registada qualquer morte. James *et al.* (1984) encontrou menores mortalidades quando eram a esposa ou as filhas do dono da exploração a tratar dos vitelos (citado por Lundborg *et al.*, 2005), situação que se verificou no estudo em questão. Torsein *et al.*, (2011) refere grande variação na mortalidade verificada entre explorações, assumindo que explorações com baixas taxas de mortalidade apresentam 1% de mortalidade e explorações com altas taxas de mortalidade 9%.

8.2.3. Terapêutica instituída

No estudo de Windeyer *et al.* (2014) mais de 23% dos vitelos foram tratados pelo menos uma vez para diarreia, e dos vitelos tratados, 8,7% foi tratado mais do que uma vez. No presente estudo, 16 vitelos acometidos por diarreia (35,5%) foram tratados pelo menos uma vez, mas apenas 3 deles (6,7%) foram tratados mais do que uma vez. Relativamente aos vitelos acometidos com doença

respiratória, foram todos submetidos a tratamento, havendo assim 6,7% dos vitelos tratados para doença respiratória, valor inferior aos 22% verificados por Windeyer *et al.* (2014).

É de ter em consideração que tanto o diagnóstico como a instituição terapêutica, estavam a cargo da tratadora dos vitelos, estando o diagnóstico dependente da sua habilidade em reconhecer sinais precoces e estabelecer um tratamento adequado, ficando este último também dependente dos medicamentos disponíveis na exploração no momento da afeção. Sivula *et al.* (1996) procedeu ao exame *post-mortem* de 52 vitelos para verificar a eficácia do diagnóstico do produtor, e verificou uma especificidade de 93% para diarreia e 100% para pneumonia, mas a sensibilidade era baixa, com valores de 58 e 56% respetivamente.

Não foi verificada qualquer diferença entre os grupos de estudo (controlo e Nova Calforce®) e a instituição de terapêutica, quer de antibiótico ($p = 0,45567$), anti-inflamatório ($p = 0,5981$), ou eletrólitos ($p = 0,2737$), embora Schieder (2013) afirme que com o uso de acidificantes no leite haverá menor necessidade de recorrer a terapêutica.

8.2.4. Ganho médio diário de peso

Os vitelos do presente estudo mostraram médias de GMD até ao desmame de 0,8076 Kg/dia, média superior à verificada por Virtala *et al.* (1996) que reportou ganhos entre 0,56 e 0,62 Kg/dia até aos 3 meses e à verificada por Rosenberger *et al.* (2017) (0,77 Kg/dia) em vitelos a ingerir a mesma quantidade de leite diário que os vitelos do presente estudo (6 L). Já Windeyer *et al.* (2014) registou GMD de 0,95 Kg/dia até aos 91 dias, média superior à registada.

Os dois grupos de estudo mostraram uma diferença no GMD de 71,5 g/dia, com a média mais alta a corresponder ao grupo Nova Calforce® (0,8426 Kg/dia). Apesar desta diferença não mostrar significância estatística ($p = 0,06095$), o valor encontra-se muito próximo de $p < 0,05$, levando a crer que as diferenças observadas podem dever-se ao uso do leite acidificado pelo produto Nova Calforce®. Também Yanar *et al.* (2006) verificou maiores GMD em vitelos alimentados com leite de substituição acidificado, quando comparados com vitelos alimentados com leite de substituição não acidificado. Foi ainda possível verificar que a média de GMD dos vitelos que ingeriram o LDA e que não sofreram qualquer doença, foi superior em 87,9 gramas ao GMD do grupo controlo nas mesmas condições.

Influência das doenças no GMD

A média de GMD dos vitelos acometidos por qualquer uma das afeções registadas revelou-se mais baixa do que a média dos vitelos que se mantiveram saudáveis ao longo do estudo. Contudo, nenhuma das associações entre a afeção e o GMD revelou significância estatística ($p > 0,05$), ao contrário do

que seria de esperar. Tal poderá dever-se ao reduzido número de vitelos no estudo. Donovan *et al.* (1998), entre muitos outros autores, apurou que a ocorrência de diarreia neonatal e de doença respiratória leva a GMD mais baixos. Chega a observar-se uma redução no GMD dos vitelos até ao desmame, na ordem dos 8% em vitelos que desenvolveram pneumonia, 18% em vitelos que desenvolveram diarreia, e 29% em vitelos que desenvolveram ambas doenças (Anon, 2012).

Analisando as médias de GMD dos vitelos acometidos com diarreia (0,7762 Kg/dia) e dos vitelos que não desenvolveram qualquer afeção (0,8361 Kg/dias), verifica-se uma redução de 7%. Relativamente à doença respiratória é importante referir que os vitelos acometidos por doença respiratória apresentaram GMD notavelmente mais baixos quando comparados com os vitelos sem afeções (0,6835 vs. 0,8361 Kg/dia), o que corresponde a uma redução de 18% no GMD, indo de encontro ao verificado nos estudos de Virtala *et al.* (1996) e Donovan *et al.* (1998), em que a doença respiratória revelou ser a afeção que exercia maior efeito negativo no crescimento dos vitelos. É de ressaltar que 2 dos 3 vitelos afetados por doença respiratória, desenvolveram anteriormente um episódio de diarreia, tendo um deles desenvolvido também otite, o que terá contribuído para uma maior redução no GMD. Alguns autores como Schmoldt *et al.* (1979) demonstraram um efeito sinérgico em situações de vitelos acometidos por mais do que uma afeção, tendo o GMD diminuído mais do que seria de esperar contabilizando a soma das duas afeções isoladas (citado por Windeyer *et al.*, 2014).

Influencia da FTIP no GMD

Neste estudo o GMD mostrou-se significativamente relacionado com a FTIP ($p = 0,0011$). Foi verificado um GMD superior em 174 gramas nos vitelos com uma boa transferência de imunidade passiva, quando comparados com aqueles com FTIP. Os valores encontrados estão de acordo com Constable *et al.* (2017) que afirma que a FTIP está associada a taxas de crescimento reduzidas. Segundo Virtala *et al.* (1996) a FTIP pode traduzir-se em reduções no GMD na ordem das 48g durante o primeiro mês de vida.

8.2.5. Limitações e sugestões

Esta parte do estudo apresenta também limitações, tendo em conta que foi feito apenas numa exploração, selecionada também ela por conveniência. Teria sido interessante levar a cabo o mesmo ensaio também noutras explorações sobre outras condições de manejo e instalações, de forma a comparar resultados.

Nem sempre foi possível à autora acompanhar os vitelos, tendo sido grande parte dos dados recolhida pela tratadora, estando essa parte dependente dos seus registos.

Muitos dos resultados não apresentam significância estatística derivado possivelmente da reduzida dimensão da amostra.

Outra limitação reside no facto de nesta exploração não haver controlo da qualidade do colostro, nem ter havido registo quer do intervalo entre o nascimento e da 1ª refeição de colostro do vitelo, quer da quantidade de colostro ingerida, ou ainda se o vitelo mamou diretamente na mãe. Seria interessante levar a cabo o mesmo ensaio com um lote de vitelos onde fosse possível garantir o sucesso de transmissão de imunidade passiva igualmente em todos os vitelos de forma a que esta não influenciasse os resultados. O facto de haver grandes diferenças no sucesso da transferência de imunidade passiva entre vitelos, leva a que estes não estejam todos em igualdade de circunstâncias, sendo difícil associar o GMD apenas a um fator.

9. Conclusão

Das explorações visitadas, a grande maioria alimentava os vitelos com leite de desperdício resultante de vacas com mamite, vacas com altas contagens de células somáticas, e vacas em transição. Os leites analisados apresentaram de uma forma geral uma qualidade microbiológica que não se adequa à alimentação dos vitelos. Verificou-se que a maior parte dos leites utilizados na alimentação de vitelos apresentava uma contaminação bacteriana muito superior aos limites estipulados por vários autores para leite de qualidade para vitelos, o que pode resultar em maiores taxas de morbidade e mortalidade. Contudo, alguns leites de desperdício mostraram resultados conforme, o que leva a pensar na possibilidade da contaminação de alguns dos leites de desperdício com piores contagens, resultar não só de bactérias provenientes da glândula mamária das vacas que contribuem para o LD, mas também de má higiene, contaminação ambiental, e/ou multiplicação bacteriana por ausência de refrigeração aquando de um grande compasso de espera entre a ordenha e a alimentação dos vitelos. Relativamente ao ensaio realizado, verificaram-se grandes incidências de diarreia, que poderão resultar da contaminação do leite de desperdício que é oferecido aos vitelos, ou da FTIP, que se mostrou grandemente relacionado com o desenvolvimento de diarreia neste estudo, entre outros fatores. Não foi observada significância estatística na diferença entre os dois grupos de estudo relativamente à incidência de doenças, mas foi observada relativamente à necessidade de repetição de terapêutica ou repetição de afeções, situações que apenas se verificaram no grupo controlo, tendo os vitelos alimentados com LDA revelado um melhor desempenho. Apesar de se ter verificado redução da contaminação bacteriana graças à adição do produto em questão, esta não foi a esperada, podendo esse facto estar relacionado com um erro feito aquando da colheita, ou devido à alta contaminação bacteriana do leite de desperdício inicial, podendo eventualmente ser necessária uma maior concentração (além dos 1,5% utilizados).

Nos GMD, nenhuma das relações estabelecidas apresentou significância estatística, sendo a relação entre os grupos de estudo, a que apresentou maiores variações e valor mais próximo de $p < 0,05$ ($p = 0,06095$), tendo os vitelos Nova Calforce® apresentado média de GMD superior aos vitelos controlo em 71,5 gramas. Relativamente à ocorrência de doenças, apesar de se verificarem menores médias de GMD nos vitelos acometidos por estas, principalmente nos casos de doença respiratória ou mais de uma afeção, não se verificou significância estatística ($p < 0,05$). Tal ocorrência dever-se-á possivelmente ao reduzido número de vitelos presentes no estudo.

Apesar de terem sido doseadas as PT em apenas aproximadamente metade dos vitelos participantes do ensaio, de forma a inferir o sucesso da transferência de imunidade passiva, a FTIP revelou ser o fator com maior influência no GMD, tendo os vitelos com FTIP revelado uma média de GMD inferior em 174 gramas, em relação aos vitelos com uma boa transferência de imunidade passiva.

10. Bibliografia

- Akins, M. S. (2016). Dairy Heifer Development and Nutrition Management. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 32(2), 303–317. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.004>
- Al Mawly, J., Grinberg, A., Prattley, D., Moffat, J., Marshall, J., & French, N. (2015). Risk factors for neonatal calf diarrhoea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farms. *Veterinary Journal*, 203(2), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.01.010>
- Anderson, N. (2005, June). Making Acidic Milk with Formic Acid for Ad Libitum Feeding to Calves. *Animal Health News*, 13(2), 9-11. <http://oabp.ca/Ceptor/2005/June.pdf>
- Anderson, N. (2006, September). Bacterial Cultures from Acidified Milk and Milk Replacer. *Animal Health News*, 14(3), 9-10. <http://oabp.ca/Ceptor/2006/September.pdf>
- Anderson, N. G. (2008). Experiences with free-access acidified-milk feeding in Ontario. *American Association of Bovine Practitioners Proceedings*, 41, 12–24. Retrieved from <http://www.dairyweb.ca/Resources/AABP2008/Anderson.pdf>
- Armengol, R., & Fraile, L. (2016). Colostrum and milk pasteurization improve health status and decrease mortality in neonatal calves receiving appropriate colostrum ingestion. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4718–4725. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10728>
- Aust, V., Knappstein, K., Kunz, H. J., Kaspar, H., Wallmann, J., & Kaske, M. (2013). Feeding untreated and pasteurized waste milk and bulk milk to calves: Effects on calf performance, health status and antibiotic resistance of faecal bacteria. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(6), 1091–1103. <https://doi.org/10.1111/jpn.12019>
- Autio, T., Pohjanvirta, T., Holopainen, R., Rikula, U., Pentikäinen, J., Huovilainen, A., Rusanen, H., Soveri, T., Sihvonen, L., & Pelkonen, S. (2007). Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary Microbiology*, 119(2–4), 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.10.001>
- Azizzadeh, M., Shooroki, H. F., Kamalabadi, A. S., & Stevenson, M. A. (2012). Factors affecting calf mortality in Iranian Holstein dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 104(3–4), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.12.007>
- Bartels, C. J. M., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W. A. J. M., & Lam, T. J. G. M. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 93(2–3), 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.09.020>
- Bazeley, K. (2003, March). Investigation of diarrhoea in the neonatal calf. *In Practice* 25: 152-159
- Buczinski, S., Gicquel, E., Fecteau, G., Takwoingi, Y., Chigerwe, M., & Vandeweerd, J. M. (2018). Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy of Serum Refractometry and Brix Refractometry for the Diagnosis of Inadequate Transfer of Passive Immunity in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 474–483. <https://doi.org/10.1111/jvim.14893>
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2017). Perinatal Diseases. In *Veterinary Medicine: A textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. (11th ed.). (pp. 1830-1856). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Deng, Y. F., Wang, Y. J., Zou, Y., Azarfar, A., Wei, X. L., Ji, S. K., Zhang, J., Wu, Z. H., Wang, S. X., Dong, S. Z., Xu, Y., Shao, D. F., Xiao, J. X., Yang, K. L., Cao, Z. J., & Li, S. L. (2017).

Influence of dairy by-product waste milk on the microbiomes of different gastrointestinal tract components in pre-weaned dairy calves. *Scientific Reports*, 7(July 2016), 1–13.
<https://doi.org/10.1038/srep42689>

- Donaghy, J., Keyser, M., Johnston, J., Cilliers, F. P., Gouws, P. A., & Rowe, M. T. (2009). Inactivation of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in milk by UV treatment. *Letters in Applied Microbiology*, 49(2), 217–221. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02644.x>
- Donovan, G. A., Dohoo, I. R., Montgomery, D. M., & Bennett, F. L. (1998). Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 33(1–4), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)00059-7](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)00059-7)
- Duse, A., Waller, K. P., Emanuelson, U., Unnerstad, H. E., Persson, Y., & Bengtsson, B. (2015). Risk factors for quinolone-resistant *Escherichia coli* in feces from preweaned dairy calves and postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6387–6398.
<https://doi.org/10.3168/jds.2015-9453>
- Elizondo-Salazar, J. A., & Heinrichs, A. J. (2009). Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy heifers: Effects on growth characteristics and blood parameters. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3265–3273. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1667>
- Elizondo-Salazar, J. A., Jones, C. M., & Heinrichs, A. J. (2010). Evaluation of calf milk pasteurization systems on 6 Pennsylvania dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5509–5513. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3460>
- Foley, J. A., & Otterby, D. E. (1978). Availability, Storage, Treatment, Composition, and Feeding Value of Surplus Colostrum: A Review. *Journal of Dairy Science*, 61(8), 1033–1060.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(78\)83686-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(78)83686-8)
- Gelsinger, S., & Heinrichs, A. (2017). Comparison of immune responses in calves fed heat-treated or unheated colostrum. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 4090–4101.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-12010>
- Gelsinger, S. L., Heinrichs, A. J., Jones, C. M., Van Saun, R. J., Wolfgang, D. R., Burns, C. M., & Lyszczek, H. R. (2014). Efficacy of on-farm use of ultraviolet light for inactivation of bacteria in milk for calves1. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2990–2997.
<https://doi.org/10.3168/jds.2013-7260>
- Gelsinger, S. L., Jones, C. M., & Heinrichs, A. J. (2015). Effect of colostrum heat treatment and bacterial population on immunoglobulin G absorption and health of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4640–4645. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8790>
- Guerrero-Beltrán, J. A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International*, 10(3), 137–147.
<https://doi.org/10.1177/1082013204044359>
- Godden, S. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 24(1), 19–39. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.005>
- Godden, S., Feirtag, J., Green, L., Wells, S., & Fetrow, J. (2003a). A review of issues surrounding the feeding of waste milk. *Dairy Health Conference*, 49–61.
- Godden, S. M., Fetrow, J. P., Feirtag, J. M., Green, L. R., & Wells, S. J. (2005). Economic analysis of feeding pasteurized nonsaleable milk versus conventional milk replacer to dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(9), 1547–1554.
<https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.1547>

- Godden, S. M., Smith, S., Feirtag, J. M., Green, L. R., Wells, S. J., & Fetrow, J. P. (2003b). Effect of On-Farm Commercial Batch Pasteurization of Colostrum on Colostrum and Serum Immunoglobulin Concentrations in Dairy Calves. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1503–1512. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73736-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73736-9)
- Godden, S. M., Smolenski, D. J., Donahue, M., Oakes, J. M., Bey, R., Wells, S., Sreevatsan, S., Stabel, J., & Fetrow, J. (2012). Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 4029–4040. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5275>
- Gulliksen, S. M., Jor, E., Lie, K. I., Hamnes, I. S., Løken, T., Åkerstedt, J., & Østerås, O. (2009a). Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 5057–5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2080>
- Gulliksen, S. M., Jor, E., Lie, K. I., Løken, T., Åkerstedt, J., & Østerås, O. (2009b). Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 5139–5146. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2224>
- Gunn, G. J., & Stott, A. W. (1997). A comparison of economic losses due to calf enteritis and calf pneumonia in Northern Scotland. *Epidémiologie et santé animale*, pp 31 - 32.
- Heinrichs, A. J., & Heinrichs, B. S. (2011). A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd1. *Journal of Dairy Science*, 94(1), 336–341. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3170>
- Jamaluddin, A. A., Hird, D. W., Thurmond, M. C., & Carpenter, T. E. (1996a). Effect of preweaning feeding of pasteurized and nonpasteurized milk on postweaning weight gain of Heifer Calves on a Californian dairy. *Preventive Veterinary Medicine*, 28(2), 91–99. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(96\)01040-9](https://doi.org/10.1016/0167-5877(96)01040-9)
- Jamaluddin, A. A., Hird, D. W., & Thurmond, M. C. (1996b). Economics of feeding pasteurized colostrum and pasteurized waste milk to dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 209(4):751-6.
- Johnson, J. L., Godden, S. M., Molitor, T., Ames, T., & Hagman, D. (2007). Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 5189–5198. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0219>
- Jorgensen, M. A., Hoffman, P. C., & Nytes, A. J. (2006). Case Study: A Field Survey of On- Farm Milk Pasteurization Efficacy. *The Professional Animal Scientist*, 22, 472–476. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31149-9](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31149-9)
- Jorgensen, M. W., Adams-Progar, A., de Passillé, A. M., Rushen, J., Godden, S. M., Chester-Jones, H., & Endres, M. I. (2017). Factors associated with dairy calf health in automated feeding systems in the Upper Midwest United States. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5675–5686. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12501>
- Kehoe, S. I., Jayarao, B. M., & Heinrichs, A. J. (2007). A Survey of Bovine Colostrum Composition and Colostrum Management Practices on Pennsylvania Dairy Farms. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4108–4116. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0040>
- Keys, J. E., Pearson, R. E., & Weinland, B. T. (1980). Performance of calves fed fermented mastitic milk, colostrum, and fresh whole milk. *Journal of Dairy Science*, 63(7), 1123–1127. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83056-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83056-6)

- Klein-Jöbstl, D., Iwersen, M., & Drillich, M. (2014). Farm characteristics and calf management practices on dairy farms with and without diarrhea: A case-control study to investigate risk factors for calf diarrhea. *Journal of Dairy Science*, 97(8), 5110–5119. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7695>
- Lago, A., McGuirk, S. M., Bennett, T. B., Cook, N. B., & Nordlund, K. V. (2006). Calf Respiratory Disease and Pen Microenvironments in Naturally Ventilated Calf Barns in Winter. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4014–4025. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72445-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72445-6)
- Lombard, J. E., Garry, F. B., Tomlinson, S. M., & Garber, L. P. (2007). Impacts of Dystocia on Health and Survival of Dairy Calves. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1751–1760. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-295>
- Lundborg, G. K., Svensson, E. C., & Oltenacu, P. A. (2005). Herd-level risk factors for infectious diseases in Swedish dairy calves aged 0-90 days. *Preventive Veterinary Medicine*, 68(2–4), 123–143. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.11.014>
- Magnier, S. (2014). The impact of early calfhoo disease. *Veterinary Ireland Journal*, 4(5), 267–269.
- Matak, K., & Churey, J. (2005). Efficacy of UV light for the reduction of *Listeria monocytogenes* in goat's milk. *Journal of Food Protection*, 68(10), 2212–2216. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.10.2212>
- McGuirk, S. M. (2003). Solving calf morbidity and mortality problems. *American Association of Bovine Practitioners*, 1–13. Retrieved from <http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/8calf/calfmorbidity.pdf>
- McGuirk, S. M. (2008). Disease Management of Dairy Calves and Heifers. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 24(1), 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003>
- Medrano-Galarza, C., LeBlanc, S. J., Jones-Bitton, A., DeVries, T. J., Rushen, J., Marie de Passillé, A., Endres, Marcia I., & Haley, D. B. (2017). Associations between management practices and within-pen prevalence of calf diarrhea and respiratory disease on dairy farms using automated milk feeders. *Journal of Dairy Science*, 2293–2308. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13733>
- Mee, J. F. (2008). Newborn Dairy Calf Management. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 24(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.002>
- Miller, B. M., Sauer, A., & Moraru, C. I. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* in milk and concentrated milk using pulsed-light treatment. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5597–5603. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5714>
- Moore, D. A., Taylor, J., Hartman, M. L., & Sischo, W. M. (2009). Quality assessments of waste milk at a calf ranch. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3503–3509. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1623>
- Morrison, S., Scoley, G., & Barley, J. (2013). The impact of calf health on future performance. *Veterinary Ireland Journal*, 3(5), 264.
- Norström, M., Skjerve, E., & Jarp, J. (2000). Risk factors for epidemic respiratory disease in Norwegian cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 44(1–2), 87–96. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(99\)00113-0](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(99)00113-0)
- Parker, A. M., House, J. K., Hazelton, M. S., Bosward, K. L., Mohler, V. L., Maunsell, F. P., &

- Sheehy, P. A. (2016). Milk acidification to control the growth of *Mycoplasma bovis* and *Salmonella* Dublin in contaminated milk. *Journal of Dairy Science*, 99(12), 9875–9884. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11537>
- Pearce, L. E., Smythe, B. W., Crawford, R. A., Oakley, E., Hathaway, S. C., & Shepherd, J. M. (2012). Pasteurization of milk: The heat inactivation kinetics of milk-borne dairy pathogens under commercial-type conditions of turbulent flow. *Journal of Dairy Science*, 95(1), 20–35. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4556>
- Pereira, R. V., Bicalho, M. L., Machado, V. S., Lima, S., Teixeira, A. G., Warnick, L. D., & Bicalho, R. C. (2014). Evaluation of the effects of ultraviolet light on bacterial contaminants inoculated into whole milk and colostrum, and on colostrum immunoglobulin G. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2866–2875. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7601>
- Rosenberger, K., Costa, J. H. C., Neave, H. W., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2017). Corrigendum to “The effect of milk allowance on behavior and weight gains in dairy calves” (J. Dairy Sci. 100:504–512). *Journal of Dairy Science*, 100(4), 3327. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-100-4-3327>
- Schieder, C. (2013). Acidifiers - natural growth promoters in calves. *International Dairy Topics*. Volume 12 - Number 4.
- Selim, S. A., & Cullor, J. S. (1997). Number of viable bacteria and presumptive antibiotic residues in milk fed to calves on commercial dairies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(8):1029-35.
- Seppä-Lassila, L., Sarjokari, K., Hovinen, M., Soveri, T., & Norring, M. (2016). Management factors associated with mortality of dairy calves in Finland: A cross sectional study. *Veterinary Journal*, 216, 164–167. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.07.008>
- Silvestre, J. M. D. (2009). *Leites não comercializáveis: Caracterização, tratamento químico e inserção em programas alimentares de vitelos*. Dissertação de Mestrado em Produção Animal. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa.
- Sischo, W. M., Hird, D. W., Gardner, I. A. N. A., Utterback, W. W., Christiansen, K. H., & Carpenter, T. I. M. E. (1990). Economics of Disease Occurrence and Prevention on California Dairy Farms : A Report and Evaluation of Data Collected for the National Animal Health Monitoring System. *Preventive Veterinary Medicine*, 8, 141–156.
- Sivula, N. ., Ames, T. ., Marsh, W. ., & Werdin, R. . (1996). Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 27(3–4), 155–171. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(95\)01000-9](https://doi.org/10.1016/0167-5877(95)01000-9)
- Stabel, J. R. (2001). On-Farm Batch Pasteurization Destroys *Mycobacterium paratuberculosis* in Waste Milk. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 524–527. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74503-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74503-1)
- Stabel, J. R., Hurd, S., Calvente, L., & Rosenbusch, R. F. (2004). Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. in Raw Milk by a Commercial On-Farm High-Temperature, Short-Time Pasteurizer. *Journal of Dairy Science*, 87(7), 2177–2183. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70038-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70038-7)
- Stewart, S., Godden, S., Bey, R., Rapnicki, P., Fetrow, J., Farnsworth, R., Scanlon, M., Arnold, Y., Clow, L., Mueller, K., & Ferrouillet, C. (2005). Preventing Bacterial Contamination and Proliferation During the Harvest, Storage, and Feeding of Fresh Bovine Colostrum. *Journal of*

Dairy Science, 88(7), 2571–2578. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72933-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72933-7)

- Stilwell, G. (2013). As doenças mais importantes dos bovinos. *Clínica de Bovinos*. (pp. 51-55; 109-111). Lisboa: Publicações Ciência e Vida, Lda.
- Stone, B. B. (2004, June). Waste milk , milk replacer or pasteurized waste milk. *The Manager*.
- Svensson, C., Linder, A., & Olsson, S.-O. (2006). Mortality in Swedish Dairy Calves and Replacement Heifers. *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4769–4777. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72526-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72526-7)
- Svensson, C., Lundborg, K., Emanuelson, U., & Olsson, S. O. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 58(3–4), 179–197. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00046-](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00046-)
- Teixeira, A. G. V., Bicalho, M. L. S., Machado, V. S., Oikonomou, G., Kacar, C., Foditsch, C., Young, R., Knauer, W. A., Nydam, D. V., & Bicalho, R. C. (2013). Heat and ultraviolet light treatment of colostrum and hospital milk: Effects on colostrum and hospital milk characteristics and calf health and growth parameters. *Veterinary Journal*, 197(2), 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.03.032>
- Torsein, M., Lindberg, A., Sandgren, C. H., Waller, K. P., Törnquist, M., & Svensson, C. (2011). Risk factors for calf mortality in large Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 99(2–4), 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.12.001>
- Virtala, A.-M. M., Mechor, G. D., Gröhn, Y. T., & Erb, H. N. (1996). The effect of calthood diseases on growth of female dairy calves during the first 3 months of life in New York State. *Journal of Dairy Science*, 79(6), 1040–1049. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76457-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76457-3)
- Vogels, Z., Chuck, G., & Morton, J. (2013). Failure of transfer of passive immunity and agammaglobulinaemia in calves in south-west Victorian dairy herds: Prevalence and risk factors. *Australian Veterinary Journal*, 91(4), 150–158. <https://doi.org/10.1111/avj.12025>
- Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D., & LeBlanc, S. J. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine*, 113(2), 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.019>
- Yanar, M., Güler, O., Bayram, B., & Metin, J. (2006). Effects of feeding acidified milk replacer on the growth, health and behavioural characteristics of holstein friesian calves. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(2), 235–241.
- Yang, M., Zou, Y., Wu, Z. H., Li, S. L., & Cao, Z. J. (2015). Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7153–7163. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9238>
- Zou, Y., Wang, Y., Deng, Y., Cao, Z., Li, S., & Wang, J. (2017). Effects of feeding untreated, pasteurized and acidified waste milk and bunk tank milk on the performance, serum metabolic profiles, immunity, and intestinal development in Holstein calves. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0182-4>